UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1956 - N° 256

ETUDE PRATIQUE DE 54 SOUCHES DE LEVURES DU GENRE CANDIDA D'ORIGINE VAGINALE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 14 décembre 1956

PAR

Jean TRÉGUER

Elève de l'Ecole Principale du Service de Santé de la Marine
et de la France d'Outre-Mer.
Lauréat de la Faculté
Externe en-premier des Hôpitaux
Diplômé de Médecine Tropicale

né le 3 Mars 1931, à LANNILIS (Finistère)

Examinateurs de la Thèse : MM. SARIC, Professeur, Président
DELMAS-MARSALET, Prof.
BERGOUIGNAN, Agrégé.
RIVIERE J., Agrégé
— Juges

BORDEAUX

UNION FRANÇAISE D'IMPRESSION
185, Cours de la Marne

1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547309_0059

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1956 - N° 256

ETUDE PRATIQUE DE 54 SOUCHES DE LEVURES DU GENRE CANDIDA D'ORIGINE VAGINALE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 14 décembre 1956

PAR

Jean TRÉGUER

Elève de l'Ecole Principale du Service de Santé de la Marine
et de la France d'Outre-Mer.
Lauréat de la Faculté
Externe en-premier des Hôpitaux
Diplômé de Médecine Tropicale

né le 3 Mars 1931, à LANNILIS (Finistère)

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Examinateurs de la Thèse : MM. SARIC, Professeur, Président
DELMAS-MARSALET, Prof.
BERGOUIGNAN, Agrégé.
RIVIERE J., Agrégé
Juges

BORDEAUX

UNION FRANÇAISE D'IMPRESSION
185, Cours de la Marne

1956

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE G. PORTMANN

DOYEN : M. SIGALAS. — **ASSESSEUR** : M. TAYEAU

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. A MANDOUL, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY. CARLES, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS, BEAUVIEUX, CREYX, MAURIAC.

PROFESSEURS

	MM.
Clinique médicale	De GRAILLY BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN MASSÉ
Clinique d'accouchements.	RIVIÈRE
Clinique gynécologique...	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	LEGER
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et Clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	MASQUELIER
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants.	FONTAN
Zoologie et parasitologie.	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique.	BESSIERE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	MORETTI
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires.	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquées	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie.	GIRARD
Thérapeutique	F.-J. TRAISSAC
Hydrologie thérapeut. et climatologie.	DUBARRY
Carcinologie	LACHAPÈLE

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie) CAZAUX (Pharmacie, 3e section)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Anatomie	RIGAUD CABANIE
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE
Physique médicale	DUHAMEL

	MM.
Pharmacie (1re section)	R. GOLSE ROMAIN
Pharmacie (2e section)	N. QUILICHINI

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ R. STOLL (Histologie)
MARQUEVIELLE (Biologie médicale)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN LENG-LEVY LAVIGNOLLE MARTIN-DUPONT DAVID-CHAUSSE J. RIVIERE
Chirurgie générale	LAUMONIER CHAVANNAZ VILLAR TINGAUD DEPAULIS DARMAILLACQ

	MM.
Obstétrique	CHASTRUSSE FAUGERE
Ophtalmologie	CORCELLE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS M. PORTMANN
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture.	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE
Neurologie et psychiatrie	BLANC
Pneumo-phtisiologie	FREOUR

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE FAUGERE
Puériculture	VERGER PERY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Cryptogamie	LAUBIE
Obstétrique sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique	NIVET
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	VILLAR CHAVANNAZ TINGAUD LAPORTE DARMAILLACQ

	MM.
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	Mlle LINQUETTE
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU
Phytopharmacie	CORTESI
Droit médical international	AUBY
Médecine légale	L'EPEE
Séméiologie médicale	J. RIVIERE
Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Embryologie	STOLL
Pathologie médicale	BERGOUIGNAN LENG-LEVY LAVIGNOLLE DAVID-CHAUSSE RIVIERE MARTIN-DUPONT

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MES PARENTS

Humble témoignage de ma grande affection.

A MA FEMME ET A MON FILS

Tendrement aimés.

A MON FRERE

En souvenir de notre enfance.

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A NOS PROFESSEURS DE L'ECOLE DE SANTE
DE LA MARINE ET DE LA FRANCE D'OUTRE-MER

A NOS MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

A MONSIEUR LE MEDECIN GENERAL
DE DEUXIEME CLASSE LAHILLONNE

Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et de la France d'Outre-Mer

Médecin des Hôpitaux maritimes

Commandeur de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre 1939-1945

Officier du Mérite Maritime

A MONSIEUR LE MEDECIN EN CHEF
DE PREMIERE CLASSE CONSTANS

Sous-Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et de la France d'Outre-Mer

Spécialiste des Hôpitaux maritimes

Officier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre 1939-1945

A MONSIEUR LE DOCTEUR A. GEYER

Médecin Principal de la Marine
Professeur à l'Ecole de Santé Navale
Biologiste des Hôpitaux Maritimes
Chef des Travaux de Médecine Tropicale à la Faculté
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes Académiques

Commandant notre Compagnie, vous nous avez toujours accordé, depuis notre deuxième année de Médecine, une affectueuse attention.

Nous vous sommes reconnaissant de nous avoir inspiré ce travail et de nous avoir toujours guidé de votre haute compétence.

Croyez à notre vive gratitude et à nos sentiments respectueux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. BALLAN

Docteur en Médecine
Pharmacien — Ancien Interne en Pharmacie
Licencié ès Sciences

Qui nous a toujours bien accueilli au Centre de Diagnostics Biologiques, et nous a fait bénéficier de toute son expérience.

AU SECOND MAITRE DE 1re CLASSE JEAN COLIN

Certifié Aide-Bactériologue
Préparateur au Laboratoire de l'Ecole de Santé Navale
Médaille Militaire
Croix du Combattant
Médaillé de la Commémorative d'Indochine

Dont les solides connaissances techniques nous furent toujours utiles. Nous lui adressons nos remerciements bien sincères.

A TOUS LES OFFICIERS MARINIERS, INFIRMIERS ET MECANICIENS, DE LA MARINE NATIONALE

A NOS JUGES :

MONSIEUR LE DOCTEUR J. RIVIERE

Agrégé de Médecine générale
Assistant des Hôpitaux

MONSIEUR LE DOCTEUR M. BERGOUIGNAN

Agrégé de Médecine générale
Médecin des Hôpitaux
Croix de Guerre 1939-1945
Chevalier des Palmes Académiques

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. DELMAS-MARSALET

Professeur de Clinique des Maladies nerveuses et mentales
Médecin des Hôpitaux
Officier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre
Officier des Palmes Académiques

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR SARIC

Professeur de Pathologie générale et expérimentale
Médecin des Hôpitaux
Officier des Palmes Académiques

Qui nous a fait le grand honneur de bien vouloir accepter la présidence de notre jury de thèse. Nous lui exprimons notre infinie reconnaissance pour la sollicitude bienveillante et amicale dont il a toujours fait preuve à notre égard.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre profond respect.

INTRODUCTION

L'entrée dans l'arsenal thérapeutique, puis la diffusion croissante des antibiotiques, ces dernières années, a attiré l'attention sur des infections mycosiques dues principalement à des champignons levuriformes du genre Candida.

Pour notre part, lorsque notre intérêt fut éveillé par la fréquence chaque jour plus soulignée des vulvo-vaginites mycosiques, notre désir de déterminer le ou les micro-organismes en cause nous fit connaître la complexité inhabituelle des méthodes mycologiques, ainsi que le foisonnement extraordinaire des synonymies à propos de la moindre espèce, souvent simple « variété » rebaptisée par quelque mycologue de rencontre. En cette matière, il est encore plus difficile qu'en bactériologie de limiter une famille, une tribu, un genre ou des espèces. Et pour qui n'est pas hautement spécialisé, l'étude de la mycologie, même limitée à son aspect médical, fournit matière à bien des découragements.

Aussi, avons-nous pensé qu'il y avait place, à côté des rigoureuses méthodes mycologiques maintenant classiques, mais difficilement applicables dans la pratique courante d'un laboratoire hospitalier, pour une détermination simplifiée et suffisamment approximative à partir de techniques bactériologiques connues de tous. Le but que nous nous sommes fixé est donc essentiellement pratique.

CHAPITRE PREMIER

Les Candida, autrefois appelés Monilia, sont des champignons levuriformes anascosporés, de la sous-famille des Mycotoruloïdés, dont la forme levure est ronde ou ovale, et dont le mycélium forme des appareils compliqués ornés de beaux verticilles réguliers de blastospores.

La plupart sont des saprophytes habituels de la peau et des muqueuses, mais quelques espèces, dont la plus importante est C. albicans, sont pathogènes, tout au moins dans certaines conditions ou modifications, locales ou générales, du terrain. Les affections aiguës, subaiguës ou chroniques, ainsi déterminées, portent le nom de Moniliases, et atteignent le plus fréquemment la peau et les muqueuses.

Ces mycoses, relativement fréquentes, tirent leur intérêt des conditions étiologiques qui président à leur apparition et que les nombreux travaux modernes ont souligné : en effet, si les moniliases se rencontrent à tous les âges, sans distinction de sexe, ni de race ; si la dénutrition, l'obésité, le diabète, la grossesse sont des facteurs favorisants maintenant classiques, par contre, c'est depuis peu qu'on insiste sur le rôle déclenchant de l'antibiothérapie massive ou prolongée. En particulier l'auréomycine, le chloramphénicol ou la terramycine, administrés par voie orale, l'association pénicilline-streptomycine, c'est-à-dire tous les antibiotiques à large spectre d'action ont été singulièrement incriminés (1 à 58).

Pour différencier les espèces qui peuvent être pathogènes de celles habituellement saprophytes, une méthode d'identification rapide et simple est des plus utiles. Les travaux de Langeron et Guerra (1938) (99), de Lodder et Diddens (1942 (89) eurent le mérite d'apporter des critères d'identification sûrs, permettant de dissiper la confusion qui régnait dans la classification des levures anascosporées ; qu'il nous suffise de citer à titre d'exemple les 172 synonymes de C. albicans (Conant, 1947).

Conant (85), identifie six types de Candida :

1. Candida albicans ;
2. Candida tropicalis ;
3. Candida pseudo-tropicalis ;
4. Candida krusei ;
5. Candida parakrusei ;
6. Candida stellatoïda.

Pour notre part, nous avons suivi Langeron et Vanbreuseghem dans leur classification (100), considérant les groupes décrits comme des espèces et les espèces comme des variétés.

Le genre Candida comprend alors :

1° *Candida albicans*

Seule espèce productrice de chlamydospores ; fermente typiquement le glucose et le maltose, assimile le glucose, le saccharose et le maltose.

Quatre variétés :

C. albicans,
C. triadis,
C. stellatoïdea,
C. truncata.

2° *Candida tropicalis*

Pas de chlamydospores ; fermentations types : glucose, saccharose, maltose.

Quatre variétés :

C. tropicalis,
C. intermedia,
C. pelliculosa,
C. robusta.

3° *Candida pseudo-tropicalis*

Pas de chlamydospores ; fermente et utilise le glucose, le saccharose, le lactose et le raffinose.

4° *Candida guilliermondi*

Pas de chlamydospores ; fermentations types : glucose et saccharose.

Deux variétés :

C. guilliermondi,
C. chalmersi.

5° *Candida krusei*

Pas de chlamydospores ; fermentation type : glucose seul.

Trois variétés :

C. krusei,
C. catenulata,
C. brumpti.

Candida parakrusei :

Ne fermente aussi que le glucose, mais assimile glucose, saccharose et maltose.

6° *Groupe azymatique*

Pas de chlamydospores, pas d'activité fermentaire.

Quatre variétés :

C. zeylanoïdes,
C. heveanensis,
C. lipolytica,
C. rugosa.

Répétons qu'en pratique la détermination de la variété importe peu, et insistons d'emblée sur l'importance du groupe C. albicans, de loin le plus fréquemment rencontré (plus de la moitié des souches) et sans doute le plus fréquemment, sinon le seul, pathogène. LANGERON signale encore le rôle pathogène probable pour l'homme de C. tropicalis, C. krusei, et C. guilliermondi.

CHAPITRE II

LES MONILIASES

Il n'est pas dans notre intention d'étudier en détail la symptomatologie de ces affections, mais simplement de signaler les différentes lésions à partir desquelles on peut être amené à identifier ces micro-organismes. Il faut dire tout de suite que la constatation de levures n'est pas une raison suffisante pour étiqueter « Moniliase » une quelconque manifestation clinique. Bon nombre d'observations de la littérature, annoncées comme telles, se sont révélées ensuite être des plus légères.

Habituellement, on classe les Moniliases suivant leur localisation, soit au niveau des téguments et des muqueuses, soit au niveau d'un ou plusieurs viscères, enfin il existe des Moniliases généralisées.

I. — Moniliases cutanées

Observées surtout chez les diabétiques, les obèses, les éthyliques et les débiles (40).

1° L'intertrigo des régions axillaires, sous-mammaires, des plis fessiers, de l'aîne, de l'ombilic, de l'anus même, des plis interdigitaux des doigts et des pieds surtout. C'est un placard érythémateux succédant à quelques vésicules, avec souvent suintement et fissuration au fond du pli ; il détermine un prurit souvent marqué.

2° L'onyxis et la péri-onyxis : enflure et rougeur sous-unguéale avec ou sans formation de pus ; l'ongle devient dur, épais, canelé, non cassant.

3° Les Moniliases cutanées généralisées, rares, chez le nourrisson surtout, avec atteinte concomitante des muqueuses ; lésions eczématiformes, avec vésicules et pustules.

4° Les monilides ou levurides, d'origine allergique, avec des aspects vésiculo-suintants, érythémato-squameux ou infiltrés.

5° Les granulomes : placards irréguliers résultant de la confluence de nodules dermiques secondairement ulcérés ; d'évolution chronique, ils siègent au niveau de la face, du cuir chevelu, des extrémités, et se généralisent parfois.

II. — Moniliases des muqueuses

1° Le muguet : classique stomatite connue d'Hippocrate, caractérisée par un enduit blanc, mat et adhérent, en plaques, avec ou sans glossite.

2° La perlèche : fissures des commissures labiales, se transformant progressivement en placards érythémato-squameux.

3° L'ano-rectite, avec faux besoins et prurit, observée quelquefois au cours d'un traitement par antibiotiques (52).

4° Les balano-posthites ; avec une forme aiguë vésico-pustuleuse, extensive, et une forme chronique eczématiforme ou psoriasiforme.

5° La vulvo-vaginite par sa fréquence actuelle a été l'objet d'études détaillées, toutes nos souches ont cette origine.

III. — Moniliases viscérales et généralisées

1° Les Moniliases pulmonaires (22) : soit broncho-moniliase, avec toux rebelle, crachats muqueux et gélatineux, rarement striés de sang ; soit rare moniliase pulmonaire, avec fièvre,

point de côté, épanchement pleural, toux avec crachats sanglants et surinfection fréquente.

2° La forme septicémique : muguet avec dissémination sanguine, hémoculture positive (13, 32) et localisations métastatiques multiples.

3° Enfin, exceptionnellement, on a signalé des infections osseuses, auriculaires, encéphalo-méningées (12), et des endocardites, en particulier chez des toxicomanes (11, 57).

La localisation vulvo-vaginale

1° Les vulvo-vaginites mycosiques ne sont plus une rareté ; si leur connaissance date en réalité de Blaye (1928) (59), les travaux récents se multiplient qui insistent sur leur relative fréquence dans l'étiologie des leucorrhées.

En 1954, Grasset et coll. (68), sur 424 prélèvements vaginaux constatent la présence d'une mycose dans 11 % des cas ; Wurch et Lutz (1956) (77), étudiant le contenu vaginal dans 500 cas de leucorrhées, trouvent des frottis mycosiques 12 fois sur 100. Pour notre part, nos souches furent isolées au cours du dernier semestre 1955 et du premier semestre 1956, chez des femmes présentant toutes des pertes abondantes.

Il est donc possible de fixer approximativement la fréquence des infections mycosiques à 10-15 % des vulvo-vaginites.

2° La gravidité paraît favoriser incontestablement l'apparition de la mycose : en 1937, Waskovit signale 37 % de mycoses chez les femmes enceintes ; en 1950, Vayssière et Salignon (74, 76) en trouvent 34 % ; les deux tiers des cas de Grasset appartenaient à la puerpéralité ; enfin, Wurch et Lutz signalent par culture la présence de levures chez 23 % des femmes enceintes normales, et dans 42 % des cas d'infection vaginale de la gestation.

3° Les modifications du terrain :

Rien de précis ne peut être affirmé sur les rapports de l'infection mycosique avec des troubles hormonaux nets, malgré les conclusions de Mme Salignon-Michelier pour qui « l'apparition de cette mycose chez la femme a, très vraisemblablement, une cause hormonale et sans doute correspond à une hypersécrétion des deux hormones ovariennes : folliculine et surtout peut-être progestérone, qui augmente indirectement sous l'action des hormones gonadotropes, en provoquant une hypersécrétion de glycogène. C'est le glycogène qui paraît être le facteur primordial du développement du C. albicans et non le pH comme le pensent la plupart des auteurs. » (74).

Par contre, là encore, on retrouve le rôle déclenchant joué par des traitements antibiotiques antérieurs, et de partout le fait se confirme : Berhman et Howardt, Feo et Delette aux U.S.A., Alvarez Bravo et Gonzales Ramos en Amérique latine, Pundel et Ost (73) en Belgique, Gaudefroy en France (65), apportent des conclusions concordantes : les leucorrhées à champignons levuriformes apparaissent très fréquemment après antibiothérapie locale des infections vaginales et tout particulièrement après traitement des vaginites à trichomonas par la terramycine ou l'auréomycine.

Dans nos cas personnels, l'antibiothérapie antérieure n'a été retrouvée que six fois, ce qui prouve au moins la fréquence de ces mycoses en dehors même de l'appoint important fourni par les antibiotiques. Signalons que Garnier (63, 64) trouve des levures sur des muqueuses saines, aussi bien avant qu'après l'administration d'antibiotiques, et il conclut qu' « entre la constatation formelle de levures sur une muqueuse et leur inculpation comme agents pathogènes responsables, il y a une différence qui n'a pas toujours été appréciée par certains ».

4° La symptomatologie est maintenant bien connue.

Les troubles fonctionnels sont fréquents et intenses, surtout

chez la femme enceinte : prurit vulvaire avec parfois sensation de brûlure et de démangeaison intra-vaginales, rebelles aux thérapeutiques habituelles, parfois lésions secondaires de grattage. La dyspareunie est fréquente, accompagnée parfois de dysurie et de pollakiurie.

A l'examen, il existe assez souvent une importante irritation périnéale avec œdème luisant et tuméfaction labiale.

Pour Grasset (68), la vaginite peut se présenter sous deux aspects : soit muqueuse peu irritée recouverte d'un enduit crémeux, soit vaginite intense surtout au cours de la gravidité ; mais assez fréquemment l'aspect est beaucoup moins typique et le diagnostic n'est fait qu'avec l'aide du laboratoire. Enfin, la mycose peut se compliquer d'atteinte urinaire ou endo-utérine.

5° L'étude bactério-mycologique, par examen direct et par cultures, met en évidence un certain nombre de faits : dans la grande majorité des cas, le diagnostic de levurose peut être porté sur le simple examen d'un bon frottis de leucorrhée. On reconnaît, en abondance et en proportions variables, des aspects levuriformes (blastospores ou conidies) et des filaments mycéliens ; il en fut ainsi dans 49 de nos cas, 6 fois seulement cet examen fut négatif. Parfois, il existe une sorte de balancement entre les deux formes L et F (1). Quant à la leucocytose, elle est variable, mais généralement très peu importante.

La flore associée commence aussi à être bien connue : d'après Wurch et Lutz, en dehors de tout traitement antibiotique, la flore d'accompagnement est généralement constituée par des lactobacilles de Döderlein ; Bret et Bardiaux concluent aussi en ce sens (60), mais signalent la présence non exceptionnelle de bacilles Gram + ou Gram — dont la signification pathologique leur paraît nulle ; aux U.S.A., Perl, Guttmacher et Jakubowicz (72) pensent que Candida et B. de Döderlein vivent en symbiose heureuse. Nous n'avons trouvé le B. de Döderlein que 12 fois, par contre 39 fois le Bacillus subtilis

(1) Levures et filaments.

était abondant sur les frottis, seul ou rarement associé à d'autres germes banaux ; nous pensons que la constatation de B. subtilis, si par ailleurs on ne voit pas de traces de mycose sur les frottis, doit entraîner un ensemencement sur milieu de Sabouraud.

L'association Trichomonas vaginalis-Candida semble assez rare : 4 fois sur 20 cas de Bret et Bardiaux ; trois de nos observations, femmes dans la deuxième moitié de leur grossesse. Par contre, Kostic (70) trouve C. albicans dans 42 % des cas de vaginite à Trichomonas. On peut alors se demander si les symptômes doivent être imputés à la présence des levures ou à celle des protozoaires, sinon à leur association.

Les différentes espèces de Candida que l'on peut classiquement isoler du vagin sont, par ordre de fréquence décroissante :

Candida albicans, 50 à 80 % des identifications.
C. krusei et parakrusei,
C. tropicalis.

Voici les résultats de nos 54 identifications :

Candida albicans	31	fois, soit près de 60 %
C. krusei et parakrusei . .	9	—
C. tropicalis	4	—
C. pseudo-tropicalis	1	—
C. guilliermondi	4	—
Levure azymatique	5	—

La présence de levures azymatiques, classiquement non pathogènes, peut créer quelques difficultés diagnostiques et thérapeutiques en présence d'une leucorrhée. En effet, dans 4 de nos cas, le syndrome clinique de vulvo-vaginite étant des plus nets, deux fois il existait sur le frottis des signes évidents de mycose, sans autre étiologie apparente.

D'ailleurs, et plus généralement, c'est la réalité du rôle pathogène des Candida qui peut ainsi se poser : Garnier, ré-

cemment (63), a pratiqué des recherches systématiques des levures sur les muqueuses génitales ; deux fois seulement sur 87 porteuses de levures dites pathogènes, il a constaté des lésions pouvant être attribuées à la présence des levures ; et il conclut que ce n'est que dans un petit nombre de cas qu'il existe un rapport direct de cause à effet entre la constatation de ces levures et les accidents muqueux présentés par la malade. C'est aussi l'impression de KLIGMAN (30), confirmée par DE GRACIANSKY et ses coll., pour qui la présence de C. Albicans au niveau d'une lésion ne suffit pas à démontrer que celle-ci soit réellement due à la levure.

La plus élémentaire prudence nous convie donc à ne pas étiqueter systématiquement « Moniliase vulvo-vaginale », tous les cas de leucorrhées où la présence de levures a été démontrée, tant à l'examen direct qu'après culture, même si cet organisme est abondant, à fortiori s'il ne s'agit pas de l'espèce C. albicans.

Le but du biologiste, et le nôtre dans cette étude, n'est donc pas d'affirmer la réalité nosologique d'une manifestation pathologique, mais plus modestement de dire quelles probabilités il y a que tel germe soit responsable de tel aspect clinique, et partant de guider l'attitude thérapeutique.

CHAPITRE III

CARACTÈRES D'IDENTIFICATION DES CANDIDA

Nous allons indiquer et discuter les principales étapes de l'identification des levures anascosporées pouvant avoir un rôle pathogène ; mais en fait, seul le genre Candida est couramment rencontré, Torulopsis neoformans, agent de la torulose, étant exceptionnel.

I. — RECHERCHE DES LEVURES DANS LES PRODUITS PATHOLOGIQUES

Le produit pathologique, en l'occurrence prélèvement cervico-vaginal sous le contrôle de la vue ou par simple toucher, est examiné soit entre lame et lamelle dans le lugol ou le bleu brillant de crésyl à 1 %, soit après coloration de frottis. Comme colorant de routine, le Giemsa dilué nous a donné d'excellents résultats. Un Gram permet d'étudier les caractères tinctoriaux de la flore associée.

De cet examen direct, on ne peut conclure qu'à la présence ou à l'absence de levures. Nous avons vu qu'il était presque toujours positif, ainsi que la grande fréquence de l'association avec le B. subtilis ou le lactobacille de Döderlein.

ISOLEMENT

Parallèlement, le produit pathologique est ensemencé par étalement large sur le milieu de SABOURAUD modifié par LANGERON :

Glucose ..... 2 %
Peptone ..... 1 %
Gélose ..... 2 %

à ce milieu coulé en tubes, nous avons ajouté, au moment de l'emploi, de la pénicilline (50 U.O./cm³) et de la streptomycine (100 µg/cm³), afin d'éliminer les bactéries associées.

Ces deux antibiotiques suffisent fréquemment pour obtenir une purification des souches. On peut aussi, après 24 heures de primo-culture, repiquer une des colonies apparues sur milieu identique, avec ou sans antibiotiques.

VIEU a montré (112), que la néomycine (750 µg/cm³), le chloramphénicol (500 µg/cm³) et la framycétine (250 µg/cm³) étaient aussi utilisables pour l'isolement en culture pure des champignons du genre Candida. L'auréomycine n'a aucune action inhibitrice sur la croissance des Candida (DROUHET); et peut aussi servir à leur isolement, en particulier à partir des selles (100 µg/cm³).

Enfin, la cycloheximide, ou actidione, a été préconisée pour inhiber le développement des champignons saprophytes banaux (92).

Nous n'avons pas eu à utiliser le milieu acide de RAULIN (une à deux cultures successives de 48 heures). La température de culture importe relativement peu entre 25° et 37°C.

II. — ETUDE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES

24 ou 48 heures après l'isolement sur gélose de SABOURAUD, on pratique des repiquages sur milieux liquides et milieux soli-

des, afin d'étudier parallèlement les caractères morphologiques des cultures et leurs caractères biochimiques.

Les caractères morphologiques qui présentent un intérêt pour la détermination sont : l'aspect macroscopique des cultures sur milieu solide et en milieu liquide, surtout, la recherche des chlamydospores caractéristiques du groupe albicans.

1° Milieu solide.

Le repiquage de la primo-culture, sur milieu de SABOURAUD-LANGERON permettra, après un mois environ, d'étudier l'aspect des colonies adultes. Pour LANGERON et GUERRA (99), il s'agit de colonies dont la croissance est terminée et qui ont acquis leurs caractères définitifs.

Pour obtenir ces colonies adultes, il faut ensemencer sur gélose inclinée en tubes ordinaires (18×18), et faire deux points séparés et une strie terminale dans la partie haute du tube ; on obtient ainsi deux colonies géantes, d'aspect comparable ; la strie, tracée légèrement en profondeur, permet d'observer la filamentation par transparence.

D'après *LANGERON*, les caractères fondamentaux à étudier sont les suivants :

1. couleur ;
2. état crémeux ou membraneux ;
3. surface lisse ou plissée ;
4. surface brillante et humide ou mate et sèche ;

plus accessoirement : les bords des colonies, réguliers ou festonnés, entourés ou non d'une couronne de filaments.

En fait ces caractères ne permettent pas de différencier les diverses espèces de Candida. Seul C. krusei est bien caractérisé par sa colonie adulte : blanc-grisâtre, plate et plissée, à bords filamenteaux sur 2-3 mm.

De plus, la morphologie macroscopique des colonies de levu-

res peut subir des variations après un temps plus ou moins long et, par analogie avec les bactéries, on a décrit le passage d'une phase crémeuse S à une phase membraneuse R (Teissier, 1890). Divers autres caractères morphologiques ou culturaux peuvent varier au cours du passage de la phase S à la phase R, par contre, quelles que soient les modifications introduites dans la morphologie, les caractères fermentaires restent inchangés.

Tout cela réduit considérablement l'intérêt de cette recherche, longue par ailleurs : son principal mérite reste de distinguer les colonies de Candida, crémeuses et blanchâtres, des colonies de Cryptococcus (Torulopsis), muqueuses et ocres, et de certaines levures à pigment noir ou rouge (Rhodotorulacées) qui contaminent fréquemment les milieux de culture.

2° Milieu liquide.

On recherche la formation de voile, d'anneau ou de dépôt, en eau glucosée à 2 % et peptonée à 1 % (Talice et Mac Kinnon, 1932), répartie en tubes ordinaires (18×18). Après trois et dix jours de culture à 25°, on lit les résultats.

La formation d'un anneau témoigne du développement d'une colonie en collerette dans l'angle formé par la paroi du tube et la surface du liquide. Sa hauteur est variable.

La formation, plus ou moins rapide, d'un voile témoigne du développement d'une colonie aérienne recouvrant la surface libre du liquide. Ce voile peut être membraneux, formé de filaments enchevêtrés, de surface plissée et très adhérent à la paroi. Il peut être muqueux, formant une couche continue ou seulement des îlots non adhérents, flottant à la surface du liquide.

Nous avons pu vérifier l'assertion classique suivant laquelle les souches qui donnent des colonies mates et sèches forment presque constamment un voile ; l'exemple de C. krusei en particulier, est assez typique, ce qui permet presque de le reconnaître à première vue.

Il faut bien avouer que la formation ou l'absence de voile ou d'anneau n'est qu'un caractère secondaire dans la détermination des Candida. Ce n'est qu'un critère d'orientation qui doit être confirmé par les caractères physiologiques. Ainsi, en présence d'une levure qui ne fait fermenter que le glucose, la présence d'un voile oriente le diagnostic vers C. krusei.

3° Recherche des chlamydospores.

La morphologie microscopique des Candida est de peu d'utilité pratique à cause de son extrême variabilité. Un fragment de culture, examiné entre lame et lamelle dans une goutte de lugol, se montre composé de formes filamenteuses et de formes globuleuses (ou blastospores), associées en proportion variable suivant l'âge et les conditions de la culture, le mode de prélèvement. La forme et la taille des blastospores, l'aspect et le mode de constitution des filaments n'ont rien de caractéristique. Aussi les microcultures sur lames gélosées de Rivalier et Seydel, quoique donnant de jolis résultats, ne sont-elles pas d'application courante.

Mais il est un cas où l'examen microscopique permet une détermination précise. Comme l'a montré Langeron (99), l'espèce Candida albicans et ses variétés forment, sous certaines conditions, des chlamydospores.

Ce sont des « kystes végétatifs de conservation », constitués par condensation cytoplasmique aux dépens d'un ou plusieurs articles du mycélium. La paroi des chlamydospores est très épaisse, à double contour très net, lisse et fortement réfringente. Ces cellules, assez régulièrement sphériques, ont un diamètre variable entre 7 et 20 μ ; elles se colorent intensément, sont acidophiles et acido-résistantes.

Les chlamydospores de C. albicans sont terminales, isolées ou en bouquets, souvent portées par un article différencié et renflé, la protochlamydospore de Langeron et Guerra.

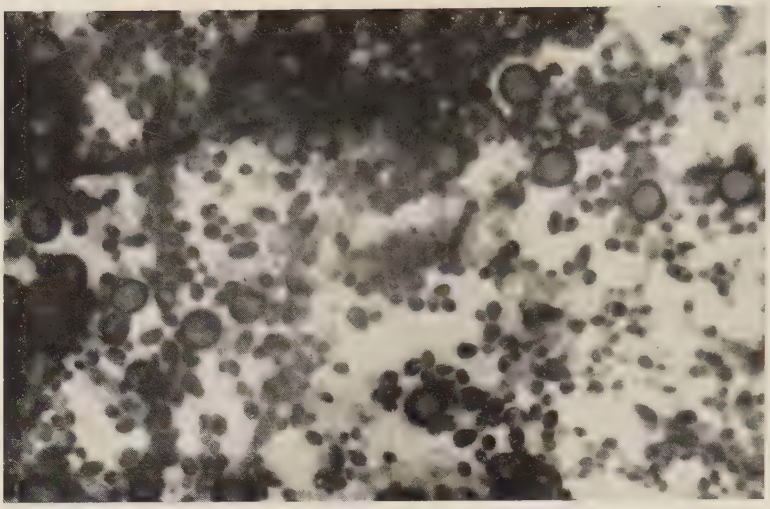


Fig. 1. — **Chlamydospores et blastospores de C. albicans.**

Avec quelques variations, la chlamydospore est certainement la forme de spore la plus répandue chez les champignons, mais dans le genre Candida, seul le groupe albicans (4 variétés) en forme (1).

Connaissant la fréquence et l'intérêt pathologique de C. albicans, il est normal de chercher à l'identifier par ce caractère. Depuis longtemps des essais ont été entrepris par divers auteurs pour obtenir rapidement la production de chlamydospores par cette espèce : à cet égard, le comportement des diverses souches est très capricieux ; certaines en produisent facilement et rapidement, d'autres au contraire, se montrent rebelles.

Nickerson et Mankowski (106), ont montré que deux polyholosides, le glycogène et l'amidon, favorisent la production des chlamydospores, mais il s'agit de produits coûteux ou difficiles

(1) MORQUER et Coll. ont isolé, d'une blastomycose du chien, une nouvelle espèce qui produit, comme C. albicans, des chlamydospores, mais qui en diffère nettement par les caractéristiques biochimiques ; ils la nomment C pseudo-tumoralis (105).

à purifier, contenant du glucose en quantité importante. KLIGMAN (97) estime que trois conditions sont favorables au développement des chlamydospores : un milieu de culture pauvre, une tension d'oxygène réduite, une basse température. Bien avant, LANGERON et GUERRA avaient trouvé le rôle favorable d'une atmosphère de gaz carbonique, que DROUHET et COUTEAU recommandaient encore récemment (88). Enfin, aux U.S.A., REID, JONES et CARTER utilisent la zéine, produit inconnu en France (108).

De toutes ces considérations, il importe de retenir que la culture à 37°, la présence de glucose et de cystéine dans le milieu, inhibent nettement la formation des chlamydospores.

TALICE (111) fut le premier à proposer l'infusion de pomme de terre, et BENHAM (79) à montrer l'utilité d'employer une gélose à la farine de maïs, pour leur production. DROUHET et COUTEAU pensent que de tous les milieux proposés, c'est le milieu pomme de terre-carotte (dit milieu P.C.) à la température de 25°, qui favorise le plus l'apparition des chlamydospores ; toutefois ils signalent encore des difficultés pour certaines souches, mais concluent qu'après deuxième passage sur le milieu P.C., la grande majorité des C. albicans produisent des chlamydospores caractéristiques.

Enfin, très récemment (1956), PAVLATOU et MARCELOU (107) ont montré que l'adjonction de bile au milieu pomme de terre-carotte permet, en moins de 24 heures, l'apparition des chlamydospores de C. albicans (65 souches). Nous pensons qu'il s'agit là d'un réel progrès, comme le prouvent nos essais personnels.

Techniques personnelles.

a) Lorsque nous avons commencé à identifier C. albicans par la production des chlamydospores, nous nous sommes adressé aux deux milieux classiques : milieu pomme de terre-carotte (P.C.) et gélose à la farine de maïs, en nous promettant d'évi-

ter, autant que possible, l'utilisation d'une atmosphère carbonique.

Rapidement nous nous sommes rallié à l'avis de VANBREUSEGHEM : le milieu à la farine de maïs de BENHAM (1931) est des plus favorables à l'apparition des chlamydospores. Par contre, initialement, le milieu P.C. nous a valu bien des déceptions, puisqu'après deuxième passage, aucune de nos souches d'albicans ne formait de chlamydospores, alors que dans le même temps, elles foisonnaient sur la gélose à la farine de maïs.

Voici la préparation de ce milieu :

Farine de maïs	40 gr.
Gélose	20 gr.
Eau	1000 cm^3

Faire bouillir la farine pendant 15 minutes au bain-marie ; exprimer dans un morceau de tissu, puis incorporer la gélose au filtrat ; autoclaver 15 minutes à 120° ; répartir en tubes en filtrant grossièrement sur coton ; stériliser à 110° pendant 20 minutes.

A partir du milieu d'isolement, on ensemence en deux points, et une strie légèrement en profondeur. Après 48 heures de séjour à 25°, on repique systématiquement sur un nouveau milieu au maïs, en même temps qu'on colore un frottis pour rechercher d'éventuelles chlamydospores, mais le plus souvent on n'en trouve pas (une seule souche sur 11 a formé des chlamydospores dès le premier ensemencement). Après un nouveau délai de 48 heures, on fait des frottis à partir du premier et du second repiquages.

La méthode de coloration la plus simple et qui nous a donné d'excellents résultats est le Giemsa dilué (III gouttes/cm^3 d'eau ; durée 15 minutes) : à l'immersion homogène, les chlamydospores apparaissent comme de grosses cellules (10 μ environ) entourées d'une épaisse capsule colorée en violet. Leur recherche au microscope à contraste de phase (DROUHET) ne nous a pas semblé d'une utilité incontestable.

C'est ainsi qu'en 4 jours, nous avons pu faire le diagnostic

de 11 souches de C. albicans : sur certains frottis, les chlamydospores étaient rares et il fallait les chercher assez attentivement ; sur d'autres, par contre, elles abondaient.

Encouragé par ce succès relatif, nous avons essayé de faire de la gélose à la farine de maïs un milieu d'isolement, en y ajoutant des antibiotiques ; à deux reprises, avec P. Ballan, nous avons ainsi identifié C. albicans dans un délai de 48 heures, après avoir repiqué au bout de 24 heures.

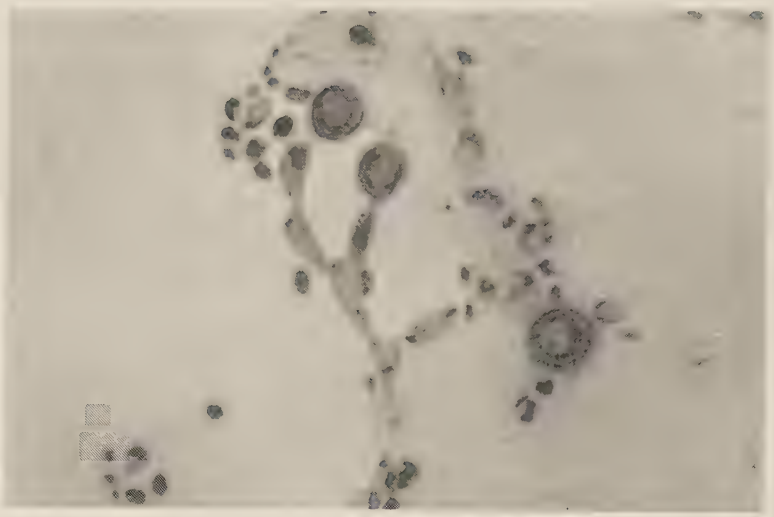
Mais par la suite, nous avons eu la preuve, soit par l'étude des caractères biochimiques, soit par culture sur milieux biliés, que certaines souches de C. albicans pouvaient rester deux mois sur la gélose à la farine de maïs sans produire de chlamydospores.

b) Après avoir pris connaissance des travaux de Pavlatou et Marcelou, nous avons repris les deux milieux classiques, le milieu pomme de terre-carotte et la gélose à la farine de maïs, auxquels nous avons ajouté 20 % de bile de bœuf de la façon suivante : on fait fondre les milieux par chauffage au bain-marie bouillant, on refroidit vers 50°, on ajoute 2 cm^3 de bile stérile pour 10 cm^3 de milieu et on incline les tubes.

Les milieux sont aussi ensemencés en deux points et une strie terminale, puis abandonnés à la température du laboratoire.

Nous avons commencé par examiner une souche anciennement identifiée, qui avait produit des chlamydospores après quatre jours, au deuxième repiquage, sur gélose de Benham (cas moyen). Par des prélèvements à temps échelonnés, nous avons trouvé des chlamydospores typiques vers la seizième heure ; au bout de 24 heures, elles foisonnaient sur les frottis.

Par la suite, nous avons étudié des souches conservées au laboratoire depuis plusieurs mois et des souches récemment isolées de prélèvements pathologiques. A ce jour, nous avons examiné, sur milieu pomme de terre-carotte-bile (milieu P.C.B.)



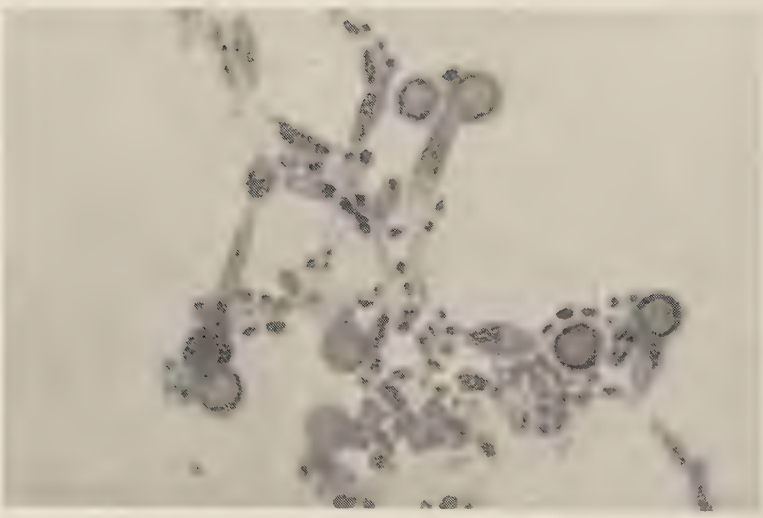


Fig. 2 et 3. — **Chlamydospores colorées par le Giemsa dilué ; noter les protochlamydospores.**

et sur gélose à la farine de maïs-bile (milieu M.B.), 31 souches de C. albicans ; pour 21 d'entre elles, nous possédions les résultats d'essais antérieurs sur gélose de BENHAM :

chlamydospores après	48 heures :		1	souche
—	— 4 jours :	(2e milieu) :	10	—
—	— 10 jours :	(2e milieu) :	2	—
—	— 20 jours :	(2e milieu) :	1	—
pas de chlamydospores après 2 mois:			7	—

Un tiers donc des souches de C. albicans n'ont pas produit de chlamydospores dans ces conditions.

Sur les milieux P.C.B. et M.B. les résultats sont bien supérieurs :

chlamydospores après	24 heures	24	souches
—	— 48 heures	3	—
—	— 4 jours	2	—
—	— 6 jours	1	—
—	— 10 jours	1	—

Suivant cette technique, près de 80 % des souches de C. albicans produisent donc des chlamydospores en 24 heures. Nous n'avons pas pratiqué de repiquage, mais devant l'existence de quelques souches encore lentes à former leurs spores, il semble qu'en présence d'une recherche encore négative au bout de 48 heures, il soit préférable de repiquer sur un milieu bilié neuf. A noter tout de même que ce sont des souches anciennement isolées qui composent ces retardataires.

Nous n'avons pas trouvé de différences sensibles dans le comportement des souches sur milieu P.C.B. et sur milieu M.B. alors que nous avions vu auparavant la gélose à la farine de maïs surclasser le milieu P.C.

Nous avons vérifié par ailleurs, sur ces mêmes milieux, que parmi 24 souches de diverses autres espèces de Candida (décrites comme ne produisant pas de chlamydospores, et identifiées par

leurs caractères biochimiques), aucune n'a donné de chlamydospores, même après 20 jours.

Le rôle exact joué par la bile, ou par un de ces constituants. dans la production des chlamydospores reste encore une énigme.

EN CONCLUSION

L'adjonction de bile au milieu pomme de terre-carotte (milieu P.C.B. de Pavlatou et Marcelou) et à la gélose à la farine de maïs (milieu M.B.), permet en 24 heures, dans près de 80 % des cas, l'apparition des chlamydospores caractéristiques de Candida albicans.

Ces milieux biliés présenteront désormais une grande importance pour la détermination rapide et simple de cette espèce fréquemment pathogène.

Le temps nous a fait défaut pour tenter d'isoler directement sur ces milieux à base de bile, et additionnés d'antibiotiques, d'autres souches de Candida. A notre avis, il y a là matière à études.

En dehors de la recherche des chlamydospores, caractéristiques de l'espèce C. albicans, les caractères morphologiques du genre Candida ne permettent donc pas, contrairement à ce que pensaient Langeron et Talice en 1932, d'arriver à un diagnostic spécifique. Ils ont seulement une valeur d'orientation.

III. — ETUDE DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES

Langeron et Guerra, en 1938, ont démontré que dans le cadre des levures imparfaites, une espèce est définie essentiellement par des caractères biochimiques (99).

La stabilité des caractères fermentaires d'une levure a souvent été mise en doute, mais à l'heure actuelle, la plupart des auteurs admettent la fidélité de ces caractères, assez constants pour être utilisés en systématique.

Deux conditions sont nécessaires pour obtenir des résultats satisfaisants : ne tester que des souches purifiées, c'est-à-dire non contaminées par des bactéries et si possible non mélangées à d'autres espèces ; n'employer que des sucres purs.

1° Fermentation des sucres

C'est une des propriétés biologiques les plus importantes des champignons levuriformes ; elle traduit la désintégration des sucres en anaérobiose jusqu'au stade de dégagement du gaz carbonique.

Des lois des fermentations des sucres par les levures, de Kluyver et Dekker (1915, 1931), il résulte que le nombre des sucres à utiliser pour ces épreuves se ramène à 5 :

glucose,
saccharose,
maltose,
lactose,
raffinose.

Malgré les critiques formulées, nous avons utilisé la méthode de la cloche renversée dans un tube à essai, technique classique en zymologie médicale. D'après Langeron, elle ne permet pas de déceler les pouvoirs fermentatifs très faibles.

Nous avons dû renoncer à la méthode de Guerra des tubes à tampon de paraffine, très fidèle, mais qui nécessite une adresse peu commune. Drouhet et Couteau adoptent une technique bactériologique et utilisent des tubes d'Ivan Hall.

Le milieu de base reste l'eau peptonée à 1 %, à laquelle on ajoute 1 % de l'indicateur d'Andrade (solution 0,5 % de fuchsine décolorée par NaOH). Ajusté à pH 7, 2-7, 4, le milieu

doit être jaune paille. On le répartit dans les tubes par fractions de 9 cm^3. Après stérilisation des tubes, on ajoute dans chacun d'eux 1 cm^3 d'une solution stérile à 10 % d'un des 5 sucres à tester. Après évacuation de l'air par ébullition pendant 10 minutes, les tubes refroidis peuvent être ensemencés par émulsion, dans le milieu, d'une anse de culture de 24 heures sur gélose de SABOURAUD. Incubation à 25° environ.

Première lecture après trois jours ; en général le virage du milieu au rouge cerise (acidification) précède le dégagement d'une bulle de gaz sous la cloche. Lecture des résultats après 10 jours, mais il est nécessaire de garder les tubes jusqu'au vingtième jour, certaines souches pouvant produire des fermentations tardives.

Voici quel a été le comportement de nos 54 souches :

Nombre total de résultats escomptés	99
Nombre de résultats nets (gaz)	73
Nombre de résultats douteux (acidification)	22
Nombre de résultats négatifs	4

L'addition d'un indicateur coloré pour mesurer l'acidité est donc utile. Dans le cas d'une faible fermentation, un virage très net de l'indicateur attire l'attention, et permet d'orienter le diagnostic.

Les résultats totalement négatifs sont imputables aux 4 souches de C. guilliermondi qui n'ont pas fermenté le raffinose ! A noter que ce même sucre n'a donné lieu qu'à une acidification avec la souche de C. pseudotropicalis.

La fermentation des sucres par la méthode de la cloche renversée nous paraît donc suffire pour la pratique courante, et permet à elle seule de déterminer nombre d'espèces de Candida.

2° Assimilation des sucres

C'est une épreuve essentielle pour la détermination des levures anascosporées, et d'après WICKERHAM elle est plus sensible que la fermentation en ce qui concerne la détection des systèmes enzymatiques.

Les termes d'assimilation ou d'élection des sucres désignent la faculté pour une levure de se développer en utilisant tel ou tel sucre pur ; la prolifération consécutive à cette utilisation se traduit par une acidification précoce mais fugace du milieu ambiant.

La classique méthode auxanographique de BEIJERINCK (1889), remise en honneur par LODDER (1934), a subi quelques modifications. Le principe demeure d'étaler, en boîte de Petri, une émulsion de la levure à étudier dans un milieu gélosé contenant seulement les substances azotées nécessaires au développement du champignon ; ensuite, on dépose à la surface du milieu, les sucres à étudier ; la levure ne croît que dans la zone de diffusion du sucre assimilé.

Voici la technique que nous avons utilisée et qui nous a été inspirée par un article de LUCE (101) sur le métabolisme glucidique microbien : une gélose peptonée additionnée de rouge de phénol est coulée en boîte de Petri ; on l'ensemence avec la levure étudiée, et on dépose sur la surface 5 disques imprégnés des différentes solutions des 5 glucides types ; chaque glucide diffuse dans la gélose autour du disque et, si la levure assimile le glucide correspondant, l'indicateur vire au jaune, sinon le milieu reste inchangé.

Notre milieu se compose de :

Peptone	10 gr.
Gélose	25 gr.
Eau	1000 cm³

Ajuster à pH 7, 2-7, 4 ; précipiter et filtrer ; ajouter ensuite 12,5 cm³/1. de rouge de phénol (1) à 1 p. 500 ; répartir en flacons de 25 cm³ et stériliser.

(1) Formule de l'indicateur : NaOH N/10 : 40 cm³ ; rouge de phénol : 1 gr. ; eau distillée : 460 cm³.

Nous employons des disques de papier buvard (diamètre 10 mm., force 41 kg. 500 au m^2), immergés pendant 24 heures dans les solutions à 10 % des glucides dont on veut les imprégner, desséchés une heure à 40°, stockés en tubes bouchés. Toutes ces opérations sont faites stérilement.

Au moment de l'emploi, faire fondre le contenu des flacons au bain-marie, refroidir vers 50° et ensemencer avec 1 cm^3 d'une suspension de levures (2 anses d'une culture de 24 heures par cm^3 d'eau physiologique) ; agiter et couler en boîte de Petri ; laisser sécher une heure à l'étuve, pour éliminer l'eau de condensation nuisible à la diffusion régulière des sucres ; placer les 5 disques sucrés dans l'ordre fixe, glucose, saccharose, maltose, lactose et raffinose : séjour à 25°.

Les résultats sont obtenus très rapidement. Nous avons même constaté qu'il importait de faire la lecture entre la sixième et la douzième heure après l'ensemencement : autour des sucres utilisés, on observe un halo jaune de 20 à 30 mm., et par transparence on voit que le milieu est plus dense, plus opaque dans cette zone, ce qui traduit le développement plus abondant des colonies.

Il est nécessaire de surveiller le virage acide vers la dixième heure, car passé un certain délai, il se produit une réversibilité du phénomène : le milieu s'alcalinise, devient pourpre violet, le halo disparaît après 24 heures. Cette alcalinisation secondaire, précoce pour la majorité des souches, est retardée pour C. guilliermondi et les levures azymatiques.

Cette technique est donc rapide et simple ; une boîte à préparer, 5 disques à déposer, et on obtient avec 100 % de succès les caractéristiques glucidiques d'une levure.

L'assimilation des sucres, propriété fixe et constante, doit être étudiée pour toutes les souches de Candida, concurremment à la fermentation ; en effet, il n'y a pas parallélisme entre la fermentation et l'utilisation respiratoire d'un sucre.

3° Autres caractères

Il n'est pas nécessaire, à notre avis, de les rechercher d'une manière courante.

L'assimilation des substances azotées

Lodder (1952) a démontré que seule l'assimilation du nitrate de potassium a une valeur taxonomique. En effet, toutes les espèces de Candida utilisent plus ou moins la peptone, l'asparagine, l'histidine, l'urée et le sulfate d'ammonium. Le nitrate de potassium n'est assimilé que par C. pelliculosa.

L'auxanogramme de l'azote n'a donc plus de raison d'être, d'autant que l'action sur les sucres (zymogramme et auxanogramme) suffit à caractériser les différentes espèces de Candida.

Les cultures en milieu à l'alcool éthylique à 3 %

L'école hollandaise a largement utilisé l'alcool éthylique comme unique source de carbone. Après une semaine de séjour à 25°, on apprécie l'assimilation par l'abondance du dépôt ; on peut aussi observer un anneau ou un voile. L'intérêt de cette recherche est des plus réduits.

Enfin, les recherches de Langeron et Guerra (99) leur ont montré l'inutilité d'épreuves telles que la liquéfaction de la gélatine et la coagulation du lait tournesolé.

IV. — POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL

L'animal de choix pour cette étude est le lapin. Une injection dans la veine marginale de l'oreille, de 2 cm^3 d'une suspension de C. albicans (émulsion de 4 anses d'une culture jeune), tue l'animal en 4 ou 6 jours.

On trouve des lésions de différents viscères, surtout les reins, qui sont hypertrophiés et truffés de micro-abcès, ainsi que le cerveau (109). L'examen des coupes histologiques se fait après coloration par la technique de Dominici (érythrosine-bleu de toluidine) ou par la technique de Hotchkiss-Mac Manus modifiée par Grindley (93).

Candida albicans est constamment pathogène pour le lapin, avec 100 % de mortalité. C. tropicalis est pathogène à un degré moindre, avec 50 % de léthalité d'après DROUHET et COUTEAU. Enfin, les autres espèces n'ont pas de pouvoir pathogène pour le lapin.

Cette épreuve est donc caractéristique pour C. albicans, mais la recherche des chlamydospores ne l'est pas moins, bien au contraire, et en réduit l'intérêt.

SELIGMANN (50-51) a montré qu'en inoculant une suspension de C. albicans en présence de 2 mg. d'auréomycine, dans le péritoine de la souris, on produit chez ces animaux, habituellement réfractaires, 100 % de mortalité en moins de 15 jours.

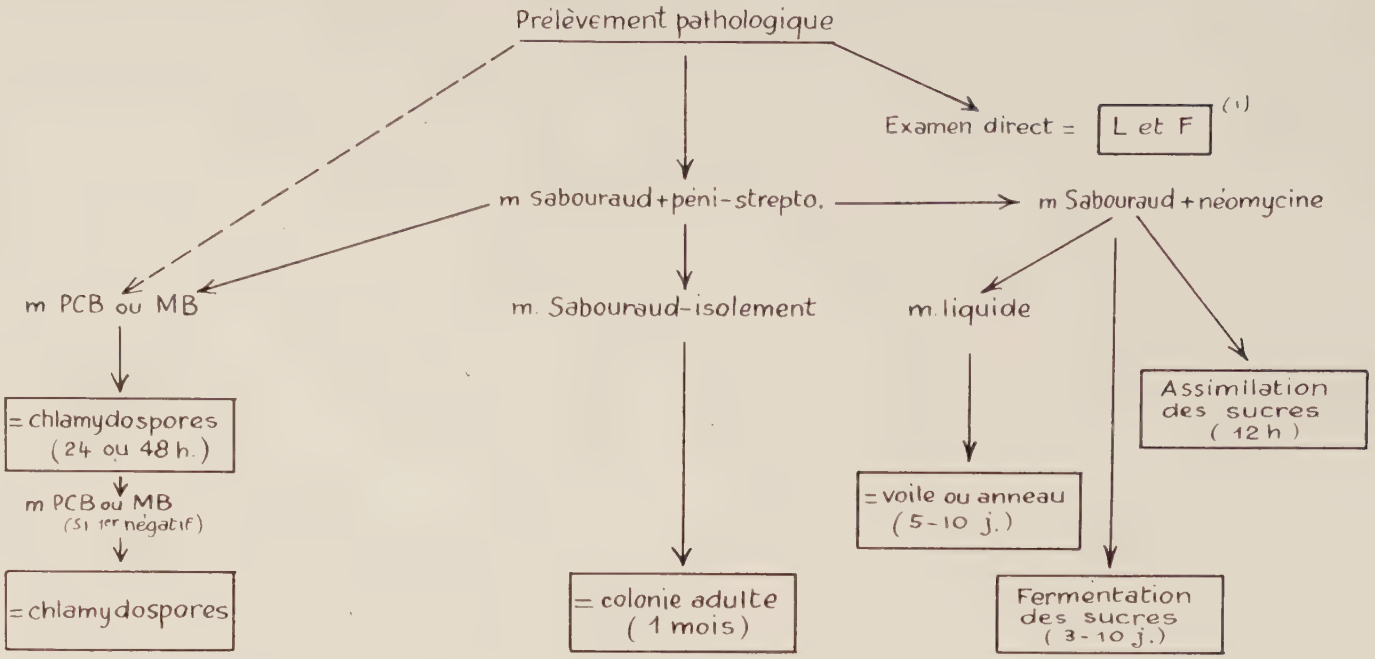
Pour nous résumer, trois épreuves sont donc suffisantes en pratique pour la détermination des différentes espèces de Candida :

— *la recherche des chlamydospores de Candida albicans,*

— *l'assimilation des sucres,*

— *la fermentation des mêmes sucres.*

SCHÉMA PRATIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES CANDIDA.



(1) Levures et filaments
m : milieux

CHAPITRE IV

DESCRIPTION DES ESPÈCES IDENTIFIÉES

Une grande partie des souches que nous avons identifiées ont été prélevées par P. BALLAN au Centre de Diagnostics Biologiques, à Bordeaux.

Nous avons effectué les déterminations au laboratoire de biologie de l'Ecole Principale du Service de Santé de la Marine et de la France d'Outre-Mer (Chef de service : Docteur GEYER) sur des milieux préparés spécialement dans ce but, et dont nous rappelons la liste :

— gélose glucosée de SABOURAND, modifiée par LANGERON (page 28),
— eau glucosée et peptonée (page 30),
— gélose à la farine de maïs de Benham (page 34).
— milieu P.C.B. et M.B. (page 35),
— milieux liquides pour la fermentation des sucres (p. 39),
— milieu solide pour l'assimilation des sucres (page 41).

Voici, groupées par espèces, la description des souches que nous avons étudiées.

CANDIDA ALBICANS (31 souches)

Oidium albicans, Ch. ROBIN, 1853.

Sur gélose glucosée : colonies blanches, crémeuses, lisses, convexes. Filamentisation périphérique irrégulière.

En milieu liquide : anneau régulier, pas de voile généralement. Nous avons rencontré à deux reprises des souches formant un voile net, qui s'identifient à la variété « triadis », décrite par LANGERON.

L'aspect des blastospores n'a rien de particulier : elles sont arrondies ou ovalaires, mesurent de 5 à 6 μ. Les chlamydospores caractéristiques de cette espèce ont été décrites précédemment ; les milieux à base de bile favorisent particulièrement leur formation, souvent en moins de 24 heures.

C'est une levure zymato-maltasique, qui possède le complexe zymase, produisant la fermentation directe des hexoses, et une hydrolase spécifique du maltose. C. albicans fermente donc le glucose et le maltose.

L'auxanogramme des sucres est positif pour le glucose, le saccharose et le maltose.

Trois variétés : C. triadis (LANGERON et TALICE, 1928), qui forme un voile muqueux ; C. stellatoïdea (JONES et MARTIN, 1938), produit un pigment vert et des colonies étoilées, surtout sur gélose au sang ; C. truncata (VANBREUSEGHEM, 1948), forme une colonie adulte à sommet tronqué.

CANDIDA TROPICALIS (4 souches)

(CASTELLANI, 1910), BERKHOUT, 1923.

Colonies sur gélose glucosée, blanches, lisses, arrondies, convexes, cerclées d'une couronne de filaments.

En milieu liquide : voile muqueux précoce et anneau complet (2 souches).

Blastospores arrondies ou ovalaires (5-12 μ), filamentation facile et précoce. Pas de chlamydospores.

Levure zymato-saccharo-maltasique qui fermente glucose, saccharose et maltose.

Assimilation des mêmes sucres.

Trois variétés : C. robusta (Diddens et Lodder, 1942), pas de voile (2 de nos souches) ; C. intermedia (Langeron et Guerra, 1938), très fortes fermentations caractéristiques, assimilation du glucose, du saccharose ,du maltose et du lactose ; C. pelliculosa (Langeron et Guerra, 1938), voile tardif presque sans anneau, fermenterait le raffinose et assimilerait le nitrate de potassium.

CANDIDA PSEUDOTROPICALIS (1 souche)

Castellani, 1910.

Sur gélose glucosée : colonies blanches, crémeuses, lisses, humides, très aplaties.

Ni voile ni anneau en milieu liquide.
Blastospores banales (4-10 μ). Pas de chlamydospores.

Levure zymato-saccharo-lactasique qui fermente glucose, saccharose, lactose et plus faiblement le raffinose (acidification).

Assimilation des mêmes sucres.

CANDIDA GUILLIERMONDI (4 souches)

(Castellani, 1911), Langeron et Guerra, 1938.

Colonies sur gélose glucosée, blanches, crémeuses, lisses, aplaties, à bords nets.

En milieu liquide : trois souches n'ont pas formé de voile, une seule a produit un voile s'identifiant à une variété récemment décrite, « membranaefaciens » (Lodder et Kreger-Van Rij, 1952).

Blastospores petites (2-6 μ), filamentation facile. Pas de chlamydospores.

Levure zymato-saccharasique qui fermente classiquement glucose, saccharose et raffinose ; mais aucune de nos souches n'a fermenté ce dernier sucre !

Auxanogramme des sucres positif classiquement pour glucose, saccharose et raffinose ; là encore, aucune de nos souches n'a utilisé ce dernier sucre, par contre, une d'entre elles a utilisé le maltose, s'identifiant à la variété « chalmersi » (100).

CANDIDA KRUSEI (3 souches)

(Castellani, 1910), Berkhout, 1923.

Colonies sur gélose glucosée, blanches, sèches, mates, plissées, aplaties, à bords irréguliers. Filamentisation périphérique caractéristique, formée de filaments très longs et superficiels. Dans l'ensemble, aspect évocateur.

En milieu liquide : voile très précoce, anneau très haut.

Blastospores assez grandes (3-15 μ) ; filamentation facile. Pas de chlamydospores.

Levure zymatique simple qui ne fermente que les hexoses, en particulier le glucose.

Auxanogramme positif pour le glucose seul.

C. catenulata (Diddens et Lodder, 1942), ne se distingue que par un voile mince, sans anneau.

C. brumpti (Langeron et Guerra, 1935), serait presque azymatique, ne faisant fermenter le glucose que faiblement, et assimilerait le glucose et le maltose.

CANDIDA PARAKRUSEI (6 souches)

(Castellani, 1916), Langeron et Guerra, 1938.

Candida parapsilosis, Langeron et *T*alice, 1932.

Colonies sur gélose glucosée, très blanches, crémeuses et hu-

mides, lisses, arrondies. Filamentisation périphérique régulière, en arbuscules.

En milieu liquide : pas de voile, anneau bas et tardif.

Blastospores dimorphes : petites et arrondies (3-8 μ) ou géantes, en bananes, surtout dans les vieilles colonies. Filamentation facile. Pas de chlamydospores.

Levure zymatique simple qui fermente fortement le glucose.

Auxanogramme des sucres positif pour le glucose, le saccharose et le maltose.

GROUPE AZYMATIQUE (5 souches)

Candida zeylanoïdes (Castellani, 1917), Langeron et Guerra, 1938.

Sur gélose glucosée : colonies crémeuses, humides, lisses, à bords réguliers.

En milieu liquide : ni anneau, ni voile (4 souches).

Blastospores banales. Pas de chlamydospores.

Levure azymatique.

N'assimile que le glucose.

C. lipolytica (Diddens et Lodder, 1942) (C. deformans), forme un anneau et un voile membraneux tardif et liquéfierait rapidement la gélatine.

C. rugosa (Diddens et Lodder, 1942) forme un voile net (1 souche).

C. heveanensis (Diddens et Lodder) (C. suavolens), forme un anneau et utilise glucose, saccharose, maltose et lactose.

CARACTÈRES PRINCIPAUX DES ESPÈCES LES MIEUX ÉTUDIÉES

ESPÈCE TYPE	CHLAMYDOSPORES	Anneau	Voile	FERMENTATIONS G . S . M . L . R	ASSIMILATIONS G . S . M . L . R
C. albicans	⊕	+	—	AG . 0 . AG . 0 . 0	+ . + . + . — . —
C tropicalis	—	+	+	AG . AG . AG . 0 . 0	+ . + . + . — . —
C. pseudotropicalis	—	—	—	AG . AG . 0 . AG . AG	+ . + . — . + . +
C. guilliermondi	—	+	±	AG . AG . 0 . 0 . AG	+ . + . — . — . ±
C. krusei	—	+	++	AG . 0 . 0 . 0 . 0	+ . — . — . — . —
C. parakrusei	—	+	—	AG . 0 . 0 . 0 . 0	+ . + . + . — . —
C. zeylanoides	—	—	—	0 . 0 . 0 . 0 . 0	+ . — . — . — . —

AG : *Acidification et dégagement de gaz.*

CHAPITRE V

ESSAIS SUR L'ANTIBIOSENSIBILITÉ DES CANDIDA "in vitro"

Le traitement des Moniliases, cutanées ou muqueuses, est considéré par les uns comme généralement aisé, par les autres comme difficile et décevant. La localisation vulvo-vaginale est particulièrement l'objet de ces controverses thérapeutiques : NETTER (71) l'estime tenace, tandis que GRASSET insiste sur la fréquence des récidives et l'existence de formes rebelles, surtout au cours de la grosssesse (68). BRET et BARDIAUX notent la pauvreté du traitement des mycoses jusqu'à ces dernières années, la multiplicité des agents antifungiques n'étant que la traduction de l'inconstance de leur activité (60) ; DROUHET abonde dans ce sens lorsqu'il écrit qu'avant la découverte de la nystatine « on ne disposait, pour lutter contre les levures pathogènes, que de moyens peu efficaces » (117).

Il n'est pas dans notre intention d'énumérer les diverses thérapeutiques opposées aux Moniliases, mais de rappeler qu'en dehors du traitement local par les bains alcalins (bicarbonate et borate de soude), les colorants (violet de gentiane), l'iode et ses dérivés, les acides gras non saturés (acides propionique et undécylénique), les ammoniums quaternaires, etc., divers traitements généraux par voies buccale ou parentérale avaient été proposés, utilisant d'ailleurs des produits voisins.

Divers antibiotiques actifs « in vitro » sur les champignons (tyrothricine, streptothricine, gliotoxine, candicidine, etc...) ont été essayés, mais se sont montrés, soit trop toxiques pour l'homme, soit inactivés « in vivo », ou bien ne sont pas encore entrés dans la phase d'essais cliniques.

Quant aux antibiotiques antibactériens usuels, non seulement ils se sont révélés totalement inactifs « in vitro » (104), mais on sait maintenant le rôle déterminant qu'ils peuvent jouer, dans la genèse des manifestations mycosiques extensives, par l'éradication d'une partie de la flore microbienne compétitive, aggravée encore par des déficits vitaminiques.

Aussi la découverte en 1950, par Hazen et Brown, de la *nystatine* (122), substance active sur de nombreuses espèces de champignons levuriformes ou filamenteux, mais sans action sur les bactéries, vint-elle heureusement combler une place vide de notre arsenal thérapeutique. La plupart des expérimentateurs (60, 117, 129, 18) s'accordent sur la qualité des résultats, remarquables en comparaison avec les thérapeutiques antérieures, et sur l'inocuité totale de la médication aux doses habituelles.

A. — LA DETERMINATION DE LA SENSIBILITE DES CANDIDA AUX ANTIBIOTIQUES

Pour tenter d'expliquer la fréquence des infections fongiques après traitement par les antibiotiques, surtout auréomycine et chloramphénicol, administrés par voie buccale, l'hypothèse fut émise que les antibiotiques pouvaient stimuler directement la croissance des Candida. Certains essais ont paru confirmer d'abord cette manière de voir (38), mais furent infirmés par d'autres auteurs (30), qui ne constatèrent « in vitro » aucune action de ces antibiotiques sur C. albicans ; Lipnic et coll. (34) ont trouvé que pour l'auréomycine, c'est le phosphate disodique des capsules qui favorisait la croissance des Candida cultivés sur milieu synthétique. Enfin, Marcelou et Segretain (104),

montrèrent que la pénicilline, la streptomycine, la terramycine, le chloramphénicol et l'auréomycine, sont sans action « in vitro » sur la croissance et la morphologie des Candida. Nos essais rejoignent et étendent ces conclusions.

En ce qui concerne l'activité antifungique de la nystatine, si de nombreux travaux étrangers y sont consacrés, en France, seul DROUHET (117) semble s'être attaché à ce problème « in vitro ». Il étudie l'action fungistatique et fungicide en milieu synthétique liquide et sur milieu gélosé ; sur ces derniers, les dosages lui paraissent plus aisés, quoique l'activité de la nystatine soit 2 à 3 fois plus faible qu'en milieux liquides ; accessoirement il montre que les antibiotiques antibactériens courants n'influent en rien sur les résultats : la nystatine se montre active sur toutes les espèces de Candida, inhibant leur croissance à des concentrations variant entre 1,5 et 12,5 μ g. par cm^3 de milieu, son action est non seulement fungistatique mais aussi fungicide, à des doses cent fois plus fortes malheureusement.

Technique personnelle :

Nous basant sur les expériences précédentes relatives à l'action « in vitro » de la nystatine (117), et nous inspirant des techniques maintenant bien codifiées de détermination de la sensibilité des germes microbiens aux antibiotiques usuels (Institut Pasteur), nous nous sommes efforcé de mettre au point une technique relativement simple qui permette d'étudier sur des milieux solides la sensibilité des Candida à la nystatine surtout, et à divers autres antibiotiques plus accessoirement ; en fait, cette technique est applicable à de nombreux autres germes mycosiques.

Le milieu que nous utilisons a la composition suivante, il est tamponné à pH 7 :

Peptone	10 gr.
Glucose	1 gr.

Phosphate bipotassique	5 gr.
Gélose	25 gr.
Eau distillée	1000 cm

On répartit en flacons (25 cm^3) et on stérilise à 115°.

On ensemence à partir d'une culture de 24 heures sur gélose Sabouraud isolément, dont on dissout 2 anses dans 1 cm^3 d'eau physiologique ; on ajoute cette suspension de levures au contenu d'un flacon du milieu gélosé tamponné, préalablement fondu et refroidi vers 50° ; on agite et on coule en boîte de Petri. Quand la gélose est solidifiée, on place les disques imprégnés d'antibiotiques. On lit les résultats après 24-48 et 72 heures de séjour à la température du laboratoire (25°).

B. — ACTION DES ANTIBIOTIQUES ANTIBACTERIENS USUELS

Suivant la technique précédente, nous avons étudié l'action des 14 antibiotiques les plus habituellement utilisés en thérapeutique à l'heure actuelle. Nous avons expérimenté sur 5 souches de Candida :

Candida albicans	2 souches
C. pseudo-tropicalis	1 —
C. krusei	1 —
C. parakrusei	1 —

Pénicilline : sa diffusion dans la gélose n'entraîne aucune inhibition, ni aucune stimulation, sur la croissance des Candida, les colonies se développent en effet normalement jusqu'au contact du disque et sous lui.

Streptomycine : action modificatrice nulle sur la croissance des Candida.

Chloramphénicol : action nulle.

Tétracyclines : ni l'auréomycine, ni la terramycine, ni la tétracyne n'ont une action quelconque sur la croissance des Candida.

Autres antibiotiques produits par des actinomycètes du genre Streptomyces : ni l'érythromycine, la néomycine, la framycétine

(soframycine), la carbomycine (magnamycine) ou la spiramycine (rovamycine), n'exercent quelque action modificatrice.

Antibiotiques produits par des bactéries : la bacitracine est sans action, ainsi que la polymyxine.

La furadoïne est aussi inactive.

Les antibiotiques antibactériens usuels sont inutilisables dans la thérapeutique des Moniliases ; telle est la conclusion qui se dégage de ces essais.

C. — ACTION DE LA NYSTATINE

La nystatine (124-115), mycostatine ou fongicidine, a été extraite par HAZEN et BROWN en 1950 (122-123), à partir des cultures de Streptomyces noursei, et exerce des effets antibiotiques électifs sur les champignons ; par contre, elle n'a aucune action sur les bactéries.

Elle se présente sous l'aspect d'une poudre microcristalline jaune pâle, et répond à la formule chimique brute $C_{46}H_{83}NO_{18}$. Substance amphotère, elle donne des combinaisons avec les acides et les bases. Sa solubilité est faible, et les solutions perdent peu à peu leur activité antifungique.

Les premiers lots fabriqués répondant à des unités différentes, il a été très difficile de trouver une méthode précise pour doser cet antibiotique. Finalement, une activité de 1.000 unités par milligramme lui a été arbitrairement attribuée. Le lot que nous avons utilisé titrait 3.440 unités par mg.

En fait, on définit l'unité de nystatine comme « la plus petite quantité de cet antifungique qui inhibe complètement la croissance d'une souche témoin de Saccharomyces cerevisiae dans un centimètre cube de bouillon ». C'est par rapport à cette souche test que nous avons étudié, dans un milieu gélosé, la sensibilité des Candida à la nystatine ; en effet, les chiffres rapportés par les divers auteurs varient considérablement suivant les con-

ditions des essais et surtout les milieux utilisés ; à cet égard, en présence de sang, la quantité de nystatine nécessaire pour obtenir une inhibition complète de S. cerevisiae est considérablement augmentée (129).

L'activité biologique « in vitro » est moindre sur les spores qu'au stade végétatif. Le spectre antifungique est étendu comprenant, outre le genre Candida : Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioïdes brasiliensis, Coccidioïdes immitis, Epidermophyton floccosum, Microsporum audouini et M. canis enfin les Trichophytons...

Chez l'homme, après administration orale, elle n'a pas d'action sur la flore bactérienne et n'est que très peu absorbée par le tractus digestif, où elle reste stable ; cependant, on peut déceler sa présence dans le sang à des concentrations variant de 2 à 9 U./cm^3. Elle diffuse assez régulièrement, sauf dans le liquide céphalo-rachidien où sa concentration reste très faible. Elle s'élimine par le rein, mais surtout par les selles. Par voie buccale, la toxicité de la nystatine semble pratiquement nulle, même avec de fortes doses longtemps prolongées. C'est pourquoi elle est indiquée à titre prophylactique au cours des traitements par les antibiotiques à large spectre et pour la préparation de la chirurgie intestinale.

EXPERIMENTATION

I. - Action fungistatique

Nous avons testé la sensibilité de différentes espèces de Candida à la nystatine en extrapolant la classique « méthode des disques » de l'Institut Pasteur. Le principe demeure de disposer sur la gélose ensemencée d'une boîte de Pétri, des disques de papier préalablement imprégnés avec des solutions de l'antifungique ; après culture, chaque disque est entouré

d'une zone circulaire où le champignon n'a pas poussé ; le diamètre de cette zone d'inhibition permet, par comparaison avec une souche test, d'apprécier la sensibilité de la levure.

L'activité de la nystatine est influencée par un grand nombre de facteurs parmi lesquels le milieu de culture joue un rôle très important : les pH acides, la présence de gélose, éventuellement la présence d'une certaine quantité de plasma, réduisent l'activité de l'antibiotique de façon notable. Le milieu que nous avons utilisé est décrit plus haut, c'est un milieu de SABOURAUD modifié et tamponné à pH 7.

La préparation des disques de nystatine est facile, mais doit être menée stérilement. Nous sommes parti d'un lot titré à 3.440 U./mg., dont nous avons préparé les dilutions suivantes :

n° 1 à	1.000 µg/cm³	ou	3.440 U/cm³
n° 2 à	500		1.720
n° 3 à	250	»	860
n° 4 à	125	»	430

Ces solutions titrées ont servi à imprégner des disques de buvard stérilisés, à raison de 0,05 cm³ (1 goutte) par disque. Les disques sont séchés à l'étuve à 37° en une heure. Finalement nous possédions 4 séries de disques dont les concentrations, toutes théoriques, en nystatine, étaient les suivantes :

n° 1 à	50	µg ou	172	unités.
n° 2 à	25	»	86	»
n° 3 à	12,5	»	43	»
n° 4 à	6,25	»	21,5	»

Ces chiffres n'ont qu'une importance très relative.

L'ensemencement de la gélose tamponnée et la mise en place des disques ont été décrits précédemment. La lecture s'effectue après 24 et 48 heures de séjour à 25°.

Nous avons étudié ainsi la sensibilité de 24 souches de Candida :

Candida albicans	10	souches
C. pseudo-tropicalis	1	—
C. guilliermondi	1	—

C. krusei ..... 3 —
C. parakrusei ..... 6 —
Levure azymatique ..... 3 —

La zone d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique présente un aspect généralement en cocarde, où l'on trouve du centre vers la périphérie :

— une zone claire centrale où l'inhibition est totale.

— puis une zone d'inhibition partielle, inconstante, où les colonies fines et clairsemées deviennent plus nombreuses au fur et à mesure qu'on s'éloigne du disque.

— enfin, une auréole périphérique, large de 3-4 mm., où la culture est dense, plus abondante que dans le milieu ambiant non soumis à l'influence de l'antibiotique. La formation de cette auréole peut être expliquée, ou tout au moins comparée, au phénomène de la lysoplasie de FIESSINGER (hyperplasie cellulaire au contact de cellules en dégénérescence) : au niveau des zones fungicides il y a probablement libération de facteurs de croissance qui diffusent alentour et favorisent le développement des levures non soumises à l'action antibiotique.

Cet aspect typique en cocarde a été donné par toutes les souches de Candida albicans et de C. parakrusei ; pour les autres souches, l'auréole était ou bien discrète, ou plus souvent absente.

La souche de Saccharomyces cerevisiae 114 I.P. a été notre souche-test ; avec les mêmes disques et le même milieu, les diamètres des zones d'inhibition furent :

disque 1 ..... 33 mm.
disque 2 ..... 30 —
disque 3 ..... 26 —
disque 4 ..... 22 —

Il n'existait qu'une petite zone d'inhibition partielle à limites imprécises (Voir tableau).

Souches étudiées (24)	Diamètre des z d'inhibition en mm (1er chiffre : z d'inhib totale ; 2e —.— : z —.— partielle)							
	Disque 1		Disque 2		Disque 3		Disque 4	
C. albicans I	22	34	16	31	12	27	0	23
II	20	34	18	32	14	26	0	23
III	18	33	15	30	0	26	0	21
IV	18	34	16	30	12	28	0	24
V	19	33	15	30	0	25	0	20
VI	20	33	15	30	0	26	0	22
VII	20	32	15	28	12	25	0	21
VIII	21	34	18	29	14	26	0	18
IX	19	34	16	30	12	27	0	22
X	19	34	15	30	12	26	0	20
C. pseudo-tropicalis	18	25	16	23	12	20	0	18
C. guillermondi	27	0	23	0	18	0	15	0
C. krusei I	21	0	17	0	0	14	0	12
II	17	22	15	18	0	14	0	0
III	16	0	14	0	0	13	0	0
C. parakrusei I	21	35	15	30	12	25	0	18
II	21	0	17	0	12	0	0	0
III	20	35	16	32	12	28	0	23
IV	18	35	15	30	0	28	0	22
V	19	34	16	31	0	27	0	23
VI	18	34	16	30	0	26	0	21
C. azymatique I	26	0	22	0	16	0	0	0
II	17	24	12	18	0	15	0	12
III	17	21	12	18	0	14	0	0

CONCLUSIONS

— Aucune souche de Candida ne se montre résistante à l'action de la nystatine. Par contre, la sensibilité de chacune d'entre elles présente quelques variations, d'une espèce à l'autre et à l'intérieur d'une même espèce, le plus souvent minimes.

— Candida albicans et C. parakrusei ont un comportement plus homogène que les autres espèces vis-à-vis de l'antibiotique ; les effets de la nystatine se faisant sentir dans un diamètre moyen de 34 mm. (disque 1), la sensibilité de ces deux espèces est donc comparable à celle de la souche témoin de S. cerevisiae, et non pas deux fois moindre (DROUHET).

— Candida pseudo-tropicalis, C. guilliermondi et C. azymatique semblent relativement moins sensibles à la nystatine, mais c'est avec C. krusei que le phénomène est le plus net : le diamètre moyen de la zone d'inhibition autour du disque 1 n'est que de 20 mm., il n'y a pratiquement pas d'action antifungique autour du disque 4. Il serait intéressant de savoir si le traitement des infections à C. krusei ne nécessiterait pas des doses de nystatine plus importantes que le traitement des infections à C. albicans.

— C'est avec les disques 1 que les résultats sont les plus nettement lisibles, il conviendra donc lorsqu'on voudra tester la sensibilité des Candida à la nystatine de préparer des disques imprégnés avec au moins 150 unités de l'antifungique.

II. - Fungistatique, la nystatine a-t-elle aussi une action fungicide ?

1° Nous avons recherché cette action éventuelle de la nystatine en repiquant, en milieu liquide de SABOURAUD, des fragments de gélose prélevés dans les zones d'inhibition totale après 48 heures de contact avec l'antibiotique. Chaque souche a subi au moins un repiquage, généralement d'un fragment très proche du disque 1, souvent aussi d'autres fragments furent prélevés

directement sous les disques ; la souche test de S. cerevisiae a été l'objet d'expériences semblables. Après 48 ou 72 heures au maximum, toutes les cultures se révélèrent positives.

D'ailleurs, presque constamment, nous avons pu observer au-delà de 72 heures, le développement d'une subculture dans les zones d'inhibition totale, ce qui confirme les résultats des repiquages en milieu liquide.

2° Les expériences précédentes ont été complétées par la recherche directe de l'action fungicide de nos 4 séries de disques, sur Saccharomyces cerevisiae et divers Candida.

Un flacon de Sabouraud liquide tamponné, ensemencé avec 1 cm^3 d'une émulsion à partir d'une culture jeune de la souche à étudier, est réparti dans 4 tubes à hémolyse, à raison d'1 cm^3 par tube ; puis dans chacun d'eux, on immerge un des disques 1, 2, 3, 4 ; on laisse 48 heures à la température du laboratoire en agitant de temps à autre ; passé ce délai, chaque tube sert à ensemencer un flacon de gélose Sabouraud tamponnée, préalablement liquéfiée et refroidie vers 50°, que l'on étale en boîte de Petri ; après 48 heures de séjour à 25°, nous avons comparé l'aspect des cultures obtenues par rapport à un témoin non soumis à l'action antibiotique des disques ; voici les résultats moyens de ces essais :

témoin : culture en nappe à colonies régulièrement séparées,
disque 1 : rien après 48 heures, mais devient positif vers la 72e heure,
disque 2 : colonies clairsemées, 25 % environ par rapport au témoin,
disque 3 : 40 % environ de la densité du témoin,
disque 4 : aspect identique au témoin.

La conclusion qui se dégage de ces deux séries d'expériences est que dans les zones d'inhibition totale, et aux concentrations utilisées, la nystatine a seulement une action suspensive sur la

croissance des Candida. Est-ce à dire que la nystatine n'a aucune action fungicide ? Les travaux de DROUHET (117) répondent à cette question en démontrant qu'il faut des doses 50 à 100 fois plus fortes que la concentration moyenne fungistatique pour tuer C. albicans.

En pratique, dans le traitement des affections à Candida, ce que l'on recherche, c'est la disparition des manifestations cliniques, plutôt que l'éradication absolue du germe causal. Les doses habituelles (0,200 à 1 gr. par jour pendant quatre-cinq jours) sont en général remarquablement efficaces, mais la disproportion qui existe entre la dose fungistatique et la dose fungicide explique les quelques cas de récidive (3 sur les 35 de DROUHET), encore sensibles à la reprise du traitement.

CONCLUSIONS

Nous avons poursuivi un but essentiellement pratique : mettre à la disposition des biologistes, dont l'intérêt a été éveillé par un germe actuellement en vedette, une méthode de détermination simple et suffisamment précise, ne faisant appel, autant que possible, qu'à des techniques extrapolées de la bactériologie.

I. — Après une brève étude du genre Candida et un rappel de son importance croissante en pathologie humaine, due en particulier àl'introduction de l'antibiothérapie massive et prolongée, nous signalons les principales lésions à partir desquelles on peut isoler des germes de ce groupe, en insistant sur les manifestations vulvo-vaginales dont sont issues les 54 souches que nous avons étudiées. Nous rappelons à ce propos combien il est parfois délicat d'attribuer à un Candida un rôle assuré dans la genèse des manifestations pathologiques observées.

II. — Nous avons étudié les principaux caractères morphologiques et physiologiques du genre Candida. De tous les caractères morphologiques, c'est la mise en évidence des chlamydospores caractéristiques de l'espèce C. albicans qui nous paraît, de loin, le plus important. Reprenant les premiers essais de Pavlatou et Marcelou (1956), nous pensons que l'adjonction de bile aux milieux classiques constitue un réel progrès et favorise nettement la formation des chlamydospores. Par cette méthode, C. albicans peut être identifié en 24 ou 48 heures dans 80 % des cas ; or on sait que cette espèce est la

plus fréquente et la plus importante au point de vue pathologique.

L'identification des espèces non productrices de chlamydospores doit se poursuivre par l'étude des caractères biochimiques. La fermentation des 5 sucres clés peut être recherchée par la technique, classique en zymologie médicale, de la cloche renversée dans un tube à essai. Surtout, la recherche de l'assimilation des mêmes sucres revêt une importance cruciale ; nous proposons une technique nouvelle qui se caractérise par sa simplicité, sa fidélité et la rapidité d'obtention des résultats.

III. — Suit une description détaillée des espèces isolées à partir de leucorrhées ; sur 54 souches, nous avons rencontré :

Candida albicans	31	fois
C. tropicalis	4	—
C. pseudo-tropicalis	1	—
C. guilliermondi	4	—
C. krusei	3	—
C. parakrusei	6	—
Levure azymatique	5	—

IV. — Enfin, nous avons recherché « in vitro » la sensibilité des Candida aux antibiotiques antibactériens usuels et surtout à la nystatine, en utilisant une technique dérivée de la « méthode des disques » de l'Institut Pasteur.

Les germes du genre Candida sont résistants à l'action antibiotique de la pénicilline, de la streptomycine, du chloramphénicol, des tétracyclines, de l'érythromycine, de la néomycine, de la framycétine, de la carbomycine, de la spiramycine, ainsi que de la bacitracine et de la polymyxine ; enfin la furadoïne est aussi inactive.

Toutes les espèces de Candida (24 souches) se montrent sensibles à l'action de la nystatine. Il s'agit essentiellement d'une action fungistatique, la nystatine n'étant fungicide qu'à des doses beaucoup plus élevées.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes Condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes Confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la Médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu : Le Doyen : R. SIGALAS.

Vu : Le Président du Jury
SARIC.

Vu et permis d'imprimer,
Bordeaux, le 5 décembre 1956.

Le Recteur :
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

I. - ANTIBIOTIQUES ET MONILIASES

1. Aubertin E. et Verin V. — Accidents cutanés de la chloromycétine et de l'auréomycine. *J. Méd. Bordeaux*, 1951, *128*, 431-432.

2. Baubitschek F. — Antibiotics and their action on pathogenic fungi. *J. Invest. Dermat.*, 1954, *22*, 359-361.

3. Bazex A. — Fréquence des Moniliases à la suite de traitements par antibiotiques. *Bull. Soc. fr. Derm. Syph.* 1954, 294.

4. Benelli. — Antibiotiques anciens et nouveaux. Abus, erreurs, inconvénients et indications. *J. Méd. Bordeaux*, 1955, *132*, 210-215.

5. Bernard J., Mathé G. et Drouhet E. — Les infections à Candida au cours des hémopathies décompensées et leur traitement par la nystatine. *Sang*, 1955, *26*, 490-493.

6. Bickel G. — Les complications de la thérapeutique antibiotique. *Concours. Méd.* 1954, *21*, 2085-2088.

7. Brisou J. — Antibiotiques et synthèse des complexes B. Les sélections en chaine. *Presse méd.* 1953, *61*, 748-749.

8. Brown C., Propp S., Guest C.M., Beebe R.T. et Early L. — Fatal fungus infections complicating antibiotic therapy. *J.A.M.A.* 1953, *152*, 206-207.

9. Brown S.G. — Moniliasis following antibiotic therapy. *Lancet*, 1954, *266*, 393.

10. Campbell C.C. et Saslaw S. — Enhancement of growth of certains fungi by streptomycin. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1949, *70*, 562.

11. Caplan H. — Monilial (Candida) endocarditis. Following treatment with antibiotics. *Lancet*, 1955, *268*, 957-958.

12. Carron et Chavannes. — Méningite à Candida albicans après antibiothérapie prolongée locale et générale. *J. Méd. Lyon*, 1954, *825*, 453.

13. Chaptal J., Roux G., Jean R., Campo C. et Bertrand M.A. — Accident de la thérapeutique antibiotique prolongée. Pathologie de la levure chez l'enfant (à propos de trois observations dont l'une avec hémoculture positive à Candida albicans). *Sem. Hôp. Paris*, 1954, *30*, 2245.

14. Chetboul-Bensoussan L. — Moniliases, antibiotiques et nystatine. *J. Méd. et Chir. Pratiques*, 1956, *127*, 595-598.

15. Conte M. et Malvezin J. — Les côlites dues aux traitements par les antibiotiques. *Rev. Prat.*, 1954, *4*, 1855-1860.

16. Craig J.M. et Farber S. — The development of disseminated visceral mycosis during therapy for acute leukemia. *Amer. J. Path.*, 1953, *29*, 601.

17. Creyx M., Leng-Lévy J. et Lahoue G. — A propos des accidents provoqués par les antibiotiques fongiques. *J. Méd. Bordeaux*, 1954, *131*, 680-684.

18. Debré R., Mozziconacci P., Drouhet E., Drouhet V. et Hoppeler A. — Les infections à Candida chez le nourrisson. *Acta paediatr. Suisse*, 1955, *184*, 129-164.

19. Duchesnay G. — Les accidents thérapeutiques provoqués par les antibiotiques d'origine fungique. Commentaires pathogéniques. Sanctions d'ordre pratique. *Thérapie*, 1953, *8*, 632-662.

20. Duroux A., Jarnion, Ougier et Granetier. — Mycoses graves provoquées par les antibiotiques. *Presse méd.* 1954, *62*, 1101.

21. Duverne J., Muller et Bonnayme R. — Les accidents cutanéo-muqueux observés au cours des traitements par chloromycétine dans un service de typhiques. *Lyon méd.* 1950, *17*, 274.

22. Gascard E. — Les mycoses pulmonaires. *Marseille méd.*, 1955, *92*, 416-433.

23. Goiffon R. et Goiffon B. — Signes coprologiques des diarrhées par antibiotiques. *Presse méd.*, 1954, *62*, 488-489.

24. Graciansky P. (de), Leclercq R., Delaporte J. et Gouin de Roumilly P. — Les dermatoses à levures au cours des traite-

ments par les antibiotiques. *Sem. Hôp. Paris*, 1955, *31*, 2162-2182.

25. Graciansky P. (de) et Delaporte J. — Accidents à levures des traitements par les antibiotiques. 1 vol., Masson et Cie, édit., Paris, 1956.

26. Graciansky P. (de) et Boulle S. — Atlas de Dermatologie. 5 vol. Maloine, édit., Paris, 1955.

27. Harris N.S. — Aureomycin and chloramphenicol in brucellosis with general reference to side effets. *J.A.M.A.* 1950, *142*, 161-165.

28. Janbon M., Bertrand L., Roux J. et Salvaing J. — La flore fécale en cours de traitement par la terramycine. *Montpellier méd.* 1952, *61*, 312-323.

29. Janssens P.G. et Brutsaert P. — Administration prolongée d'antibiotiques, moniliase et autres complications biologiques. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1952, *32*, 465-471.

30. Kligman A.M. — Are fungus infection increasing as a result of antibiotherapy ? *J.A.M.A.*, 1952, *149*, 979-984.

31. Kyhos E.D. — Moniliasis : side effect of antibiotic therapy. *J.A.M. Women's Assoc.*, 1951, *6*, 470-471.

32. Lelong M., Alison F., Le Tan Vinh, Dao Van Ty, Desmonts G. et Cabanes J. — Le muguet généralisé (septicémie à Candida albicans). *Ann. Méd.* 1953, *54*, 5-21.

33. Lelong M. — Mycoses à Candida albicans au cours de la thérapeutique antibiotique. *Antibiot. Mal. Enfance*, 1952, 293-295.

34. Lipnick M.J., Kligman A.M. et Strauss R. — Antibiotics and fungous infections. *J. Invest. Dermat.* 1952, *18*, 247.

35. Mac Vay L.V. et Sprunt D.H. — A study of moniliasis in aureomycin therapy. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 1951, *78*, 759-760.

36. Marconi R. — La moniliasi come complicazione della terapia antibiotica in chirurgia. *Arch. Sc. med. Ital.* 1956, *101*, 212-238.

37. Mikol C. — Moniliases cutanéo-muqueuses et antibiotiques. *France méd.*, 1956, (juin), 47.

38. Moore M. — In vivo and in vitro effect of aureomycin hydrochloride on Syringospora (Monilia, Candida) albicans. *J. Lab. Clin. Med.* 1951, *37*, 703.

39. Morhardt P.E. — Antibiotiques, flore microbienne et mycoses. *Conc. méd.* 1954, *76*, 631.

40. Mougeolle J.M. — Les moniliases cutanées. *Thèse* méd. Nancy, 1953.

41. Muratore R. — Les accidents des traitements par les antibiotiques d'origine fungique. *Conc. méd.*, 1954, *76*, 1899-1911.

42. Pappenfort R.B. et Schmall E.S. — Moniliasis in patients treated with aureomycin. *Ann. Intern. Med.* 1951, *88*, 729-735.

43. Pesle G.D. et Labeguerie M. — Les mycoses, maladies d'avenir. *Presse méd.* 1953, *61*, 1096.

44. Pesle G.D. et Labeguerie M. — Deux cas de moniliase digestive au cours des traitements par l'isoniazide. *Rev. Tuberc.* 1953, *17*, 881.

45. Plichet A. — Infections fongiques compliquant la thérapeutique par les antibiotiques. *Presse méd.* 1952, *60*, 1209.

46. Reiches A.J. — Antibiotic sensitivity and moniliasis. *Arch. Dermat. Syph.*, 1951, *64*, 601-606.

47. Rentchnick P. — Les accidents provoqués par les antibiotiques. *Méd. Hyg.* (Genève), 1952, *10*, 359-378.

48. Rimbaud P. et Rioux J.A. — Les moniliases au cours des traitements par les antibiotiques (conceptions pathogéniques). *Presse méd.*, 1955, *63*, 701-702.

49. Schaberg A., Hildes J.A. et Wilt J.C. — Disseminated Candidiasis. *Arch. Intern. Med.* U.S.A., 1955, *95*, 112-117.

50. Seligmann E. — Virulence enhancing activities of aureomycin on Candida albicans. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 1952, *79*, 481-484.

51. — Virulence enhancement of Candida albicans by antibiotics and cortisone. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 1953, *83*, 778-781.

52. Sidi E. et Plas-Arditti G. — Manifestations anales consécutives aux absorptions d'antibiotiques par voie buccale. *Sem. Hôp. Paris*, 1954, *30*, 275-277.

53. Sharp J.L. — The growth of Candida albicans during antibiotic therapy. *Lancet*, 1954, *266*, 390-392.

54. Vachon A., Gilly R. et Chapuis J. — Incidents et accidents digestifs de la médication antibiotique. *Rev. lyon. Méd.*, 1954, *3*, 579-586.

55. VANBREUSEGHEM R., BALSACQ J. et BERTRAND. — Monilase généralisée par Candida albicans chez un enfant indigène au Congo belge après un traitement par les antibiotiques. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1952, *32*, 513-519.

56. WATRIN J., BEUREY J. et MOUGEOLLE J. — Les moniliases et leur traitement. *Vie méd.* 1955, *36*, 743-748.

57. WOLFE E.I. et HENDERSON F.H. — Mycotic endocarditis. Report of a case. *J.A.M.A.* 1951, *147*, 1344-1347.

58. WOODS J.W., MANNING I.H. et PATTERSON C.N. — Monilial infection complicating the therapeutic use of antibiotics. *J.A.M.A.*, 1951, *145*, 193-207.

II. - LES VULVO-VAGINITES MYCOSIQUES

59. BLAYE C. — Les vulvo-vaginites mycosiques à Monilia albicans. *J. de Méd. et de Chir.*, 23 août 1928.

60. BRET A.J. et BARDIAUX M. — Traitement des mycoses vaginales par un nouvel antibiotique antifungique : la Nystatine ou fongicidine. *Presse méd.* 1956, *64*, 671-674.

61. CARRON C. — Contribution à l'étude étiologique des mycoses génitales féminines. *Bull. Soc. Gyn. Obst.* 1955, n° 4, 405-409.

62. CHARTIER M. — Traitement des vaginites. *Vie méd.*, janvier 1956, 69-76.

63. GARNIER G. — Recherches systématiques des levures sur les muqueuses génitales. *Presse méd.* 1956, *64*, 888-889.

64. GARNIER G. et VIEU J.F. — Recherches systématiques des levures sur les muqueuses vaginales avant et après antibiotiques. *Bull. Soc. Derm. et Syph.*, 1955, n° 1, 61-62, et *Presse Méd.* 1955, *63*, 578.

65. GAUDEFROY M. — Fréquence des vaginites mycosiques en rapport avec l'administration de certains antibiotiques. *Bull. Soc. Gyn. Obst.*, 1954, *6*, 622-624.

66. GAUDEFROY M. et VIART P. — Influence des antibiotiques sur la recrudescence actuelle des vaginites mycosiques. *Ann. Biol. Clin.* 1955, *13*, 113-120.

67. Gauthier M.R. — Les leucorrhées rebelles par vaginites mycosiques. *Entret. de Bichat*, 1954.

68. Grasset J., Senèze J. et Gauthier R. — Contribution à l'étude des mycoses vulvo-vaginales. *Bull. Soc. Gyn. Obst.* 1954, *6*, 181-185.

69. Jones C.P., Carter B., Thomas W.L., Ross R.A. et Creadick R.N. — Mycotic vulvo-vaginitis and the vaginal fungi ; a report of 280 patients. *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1947, *54*, 738.

70. Kostic P. — Infection à Monilia albicans au cours du traitement des affections génitales à trichomonas par les antibiotiques. Srpiki Archiv. (Belgrade) in *Sem. Hôp. Paris*, 1953, 2775.

71. Netter A. — Gynécologie, 1 vol. Editions médicales Flammarion, Paris, 1949.

72. Perl G., Guttmacher A.F., Jakubowicz H. — Vaginal candidiasis, new method of diagnosis and treatment. *Obstetrics and Gynecology*, 1955, *5*, 640-648.

73. Pundel J.P. et Ost E. — Mycoses vulvo-vaginales et antibiotiques. *Bull. Soc. Gyn. Obst.*, 1954, *6*, 170-171.

74. Salignon-Michelier A. — Contribution à l'étude des moniliases vaginales chez la femme enceinte. *Thèse* Pharm. Marseille, 1950.

75. Vayssière E. — Les infections vulvo-vaginales par le Monilia albicans. *Rev. fr. Gyn. Obst.*, 1950, n° 3, 101.

76. Vayssière E. et Salignon A. — Vulvo-vaginite à Candida albicans. *Rev. fr. Gyn. Obst.* 1950, n° 3, 101.

77. Wurcht T. et Lutz A. — Etude du contenu vaginal dans 500 cas de leucorrhées. Cytologie, microbiologie. *J. Méd. et Chir. Pratiques*, 1956, *127*. 819-824.

III. - LE GENRE CANDIDA

78. Bakerspigel A. — A preferred method for the routine identification of Candida. *J. Infect. Dis.* 1954, *94*, 141-143.

79. Benham R.W. — Certain Moniliasis parasitic on man. Their identification by morphology and agglutination. *J. infect. Dis.*, 1931, *49*, 183-215.

80. Brumpt E. — Précis de Parasitologie, 2 vol. Masson et Cie, édit. Paris, 1949.

81. BRYGOO E.R. et COURDURIER J. — Comportement des levures du genre Candida en présence de diverses substances colorantes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, *89*, 692-696.

82. BRYGOO E.R. — Etude de 44 souches de Candida isolées à Saigon par biliculture. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, *83*, 816-818.
Etude de 66 souches de Candida isolées à Saigon de prélèvements pharyngiens. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, *83*, 818-820.

83. BRYGOO E.R. — Quarante souches de Candida isolées à Saigon de l'expectoration de tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, *81*, 676-680.

84. CARPENTER A.M. — Studies on Candida. Identification of 100 yeastlike fungi isolated from children. *Amer. J. Clin. Pathol.* 1955, *25*, 98-101.

85. CONANT N.F., MARTIN D.S., SMITH D.T., BAKER R.D. et CALLAWAY J.L. — Manual of clinical mycology, 1 vol. Ed. Saunders, Philadelphie et Londres, 1947.

86. COUDERT J. — Guide pratique de mycologie médicale. 1 vol. Masson et Cie, Paris, 1955.

87. COUDERT J. et MURAT M. — Milieux à la chloromycétine pour l'isolement des Dermatophytes et des champignons levuriformes. *Ann. Parasit. hum. comp.* 1955, *30*, 309-411.

88. DROUHET E. et COUTEAU M. — Sur la détermination des Candida. Etude des caractères morphologiques et physiologiques de 78 souches isolées de prélèvements pathologiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, *86*, 602-617.

89. DIDDENS H.A. et LODDER J. — Die anaskosporogenen Hefen, 1 vol., North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1942.

90. EVANS W.E.D. et WINNER H.I. — The histogenesis of the lesions in experimental moniliasis in rabbits. *J. Pathol. Bacteriol. G.B.* 1954, *67*, 531-535.

91. FRANQUET R. — Ce qu'il faut savoir des Moniliases. *Bull. Soc. Pharm. Nancy*, 1955, n° 26, 21-44.

92. GEORG L.K., AJELLO L. et PAPAGEORGE C. — Use of cycloheximide in the selective isolation of fungi pathologenic to man. *J. Labor. Clin. Med.*, 1954, *44*, 422-428.

93. GRINDLEY M.F. — A stain for fungi in tissue sections. *Amer. J. Clin. Path.*, 1953, *23*, 303.

94. GUERRA P. — Rôle des levures en dermatologie. Etude clinique et mycologique. *Thèse* Méd. Paris, 1935.

95 HARANT H., RIOUX J. et CARON J. — Sensibilité de quelques souches de Candida (levures pathogènes) aux antibiotiques. *Bull. Soc. Path. exot.* 1951, *44*, 534.

96 JONES C.P. et MARTIN D.S. — Identification of yeast-like organisms isolated from the vaginal tracts of pregnant and non pregnant women. *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1938, *35*, 98-106.

97 KLIGMAN A.M. — Aids in technic in the identification of Candida albicans. *J. Invest. Dermat.* 1950, *14*, 173-176.

98 LANGERON M. et TALICE R.V. — Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes *Ann. Parasit.* 1932, *10*, 1-80.

99 LANGERON M. et GUERRA P. — Nouvelles recherches de zymologie médicale. *Ann. Parasit.* 1938, *16*, 38-84, 162-179, 429-476 et 481-525. — 1939, *17*, 257-260, 447-469 et 580-589. — 1941, *18*, 95-111.

100 LANGERON M. et VANBREUSEGHEM R. — Précis de Mycologie, 1 vol., Masson et Cie, Paris, 1952.

101 LUCE J.P. — Les disques séchés pour l'étude du métabolisme glucidique microbien. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955., *89*, 132-135.

102 LUTERAAN P.J. et GUYOTJEANNIN C. — Modifications apportées au procédé de Guerra pour l'étude de la fermentation des sucres par les levures zymatiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, *84*, 819-824.

103 MAC KINNON J.E. — Zimologia medica, 1 vol., El siglo Illustrato, Montevideo, 1946.

104 MARCELOU U. et SEGRETAIN G. — Action des antibiotiques in vitro sur la croissance des Candida. *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, *87*, 229-233

105. MORQUER R., PUGET E. et BAZEX A. — Une nouvelle levure pathogène « Candida pseudo-tumoralis ». Etude systématique et physiologique. *Rev. Mycol.* 1954, *19*, 63-84.

106 NICKERSON W.J. — Medical mycology. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1953, *7*, 245-272.

107 PAVLATOU M. et MARCELOU U. — Milieu favorisant la formation des chlamydospores de Candida albicans. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, *91*, 410-413.

108. REID J.D., JONES M.M. et CARTER E.B. — A simple clear medium for demonstration of chlamydospores of Candida albicans. *Amer. J. Clin. Path.* 1953, *23*, 938.

109. Segretain G. — Etude de la maladie expérimentale d'un lapin provoquée par un Candida albicans, agent probable d'une mycose pulmonaire. *Ann. Inst. Pasteur* 1947, *73*, 674-676.

110. Skinner E. — The yeast-like fungi Candida and Brettanomyces. *Bact. Rev.*, 1947, *11*, 227-274.

111. Talice R. — Le facteur pH en mycologie. Son influence sur la culture de certaines espèces de champignons parasites de l'homme. *Ann. Parasit.* 1930, *8*, 394-410.

112. Vieu J.F. — Intérêt de certains antibiotiques fungiques pour l'isolement rapide des levures pathogènes chez l'homme. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, *89*, 250-253.

IV. - LA NYSTATINE

113. Barbier P. — Tétracycline et Nystatine. *Sem. Hôp. Paris* (Thérapeutique), janvier 1956, 19-20.

114. Blank F. — A quantitative method for the « in vitro » assay of fungistatic agents. *Canad. J. Med. Sc.* 1952, *30*, 113-117.

115. Brown R., Hazen E.L. et Mason A. — Effect of fungicidin (nystatin) in mice injected with lethal mixtures of aureomycine and Candida albicans. *Science*, 1953, *117*, 609-610.

116. Cohen R. et Webb P.A. — Nystatin, a coccidioidicidal antibiotic. *Arch. Pediat.* 1952, *69*, 414-416.

117. Drouhet E. — Traitement des infections mycosiques à « Candida albicans par un nouvel antibiotique antifongique : la nystatine. *Presse méd.* 1955, *63*, 620-623.

118. — Action de la fungicidine (nystatine) in vitro et in vivo sur Candida albicans et autres champignons levuriformes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, *88*, 298-314.

119. Dutcher J.D., Boyack G. et Fox S. — The preparation and properties of crystalline fungicidin (nystatin). *Antibiotic annual*, 1953-1954, 191-194.

120. Gold W., Stander H. et Pansy F.E. — Assay methods for nystatin. *Antibiotic annual*, 1953-1954, 195-198.

121. Grupper C. — Traitement de quelques dermatoses à levures par un nouvel antifungique : mycostatine ou nystatine. *Bull. Soc. fr. Derm. Syph.*, 1954, *5*, 495.

122. Hazen E.L. et Brown R. — Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science*, 1950, *112*, 433.

123. Hazen E.L. et Brown R. — Fungicidin, an antibiotic produced by a soil actinomycete. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 1951, *76*, 93-97.

124. Hazen E.L., Brown R. et Mason A. — Protective action of fungicidin (nystatin) in mice against virulence. Enhancing activity of oxytetracycline on Candida albicans. *Antibiotics and Chimiotherapy*, 1953, *3*, 1125-1128.

125. Kimmig J. — Nystatin in moniliasis. *Hamburger Argteblatt*, juillet 1954, 162.

126. Lefort P. — Les antibiotiques antifungiques. *Bull. méd.* 1955, n° 10, 301-303.

127. Newcomer V.D., Wright E.T. et Sternberg T.H. — The effect of fungicidin (mycostatin) combined with tetracycline on the yeast flora of the gastrc-intestinal tract of man. *Antibiot. annual*, 1954-1955, 686.

128. Pagano J.F. et Stander H. — The determination of mycostatin (Squibb nystatin) in body fluids. *Soc. Am. Bacteriol.* New York City Branch meet, 1er juin 1955.

129. Ravina A. et Eloy P. — Valeur et indications de la nystatine dans le traitement des mycoses. *Presse méd.* 1955, *63*, 991-992.

130. Sternberg T.H., Tarbet J.E., Newcomer V.D., Huddleson H.B., Weir R.H., Wright E.T. et Egeberg R.D. — Antifungal effects of nystatin on the fecal flora of animals and man. Preliminary report. *Antibiot. annual*, 1953-1954, 199-209.

131. Tarbet J.E. et Sternberg T.H. — Microbiological estimation of antifungal blood levels following administration of fungicidin. *Mycologia*, 1954, *46*, 263-275.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 13

Chapitre I. — 15

— II. — Les Moniliases 19

— III. — Caractères d'identification de Candida 27

— IV. — Description des espèces identifiées .. 47

— V. — Essais sur l'antibiosensibilité des Candida « in vitro » 53

Conclusions 65

Bibliographie 69